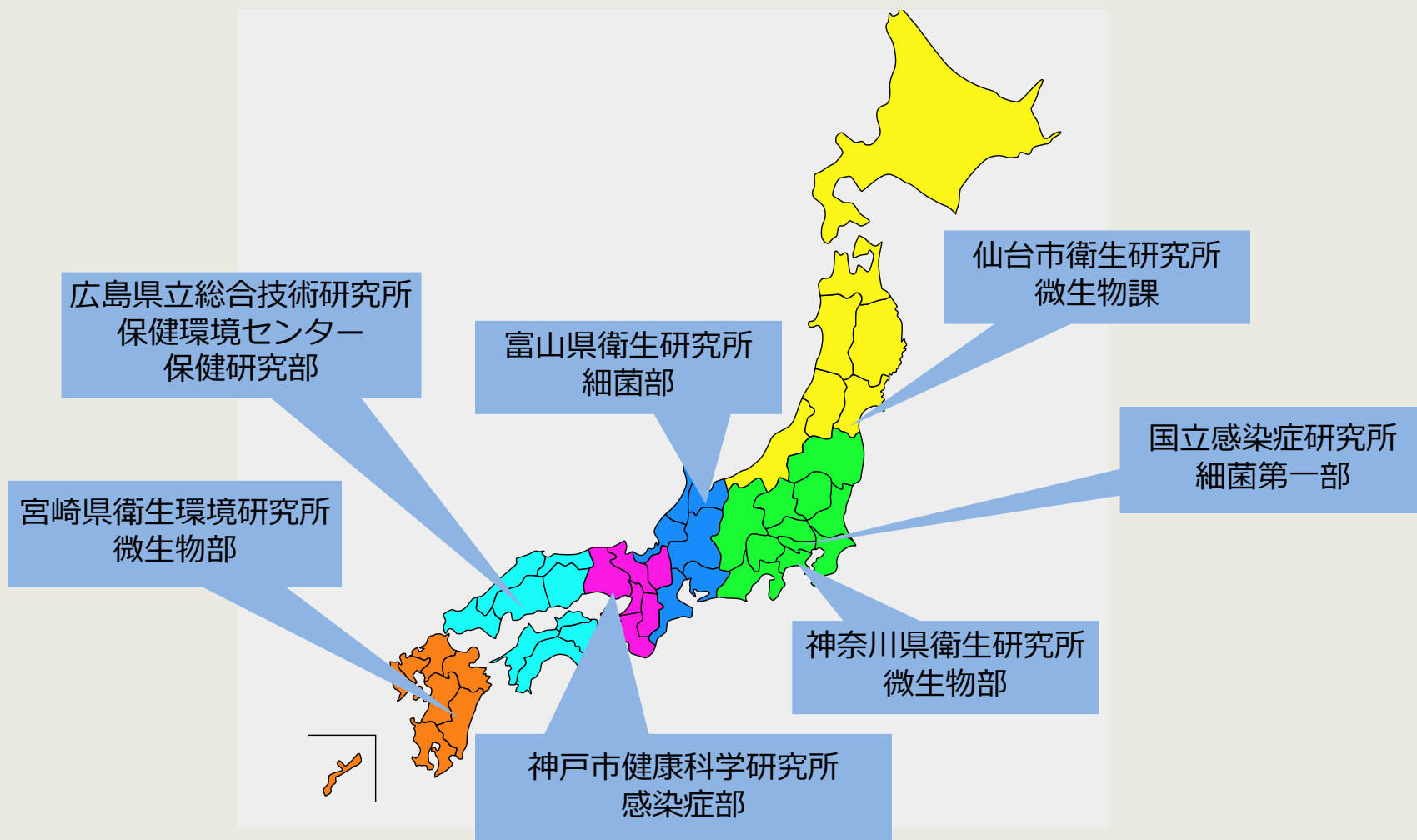


レジオネラ・レファレンスセンター会議



衛生微生物技術協議会第43回研究会
Zoom Meeting 2023.7.20. 14:00-

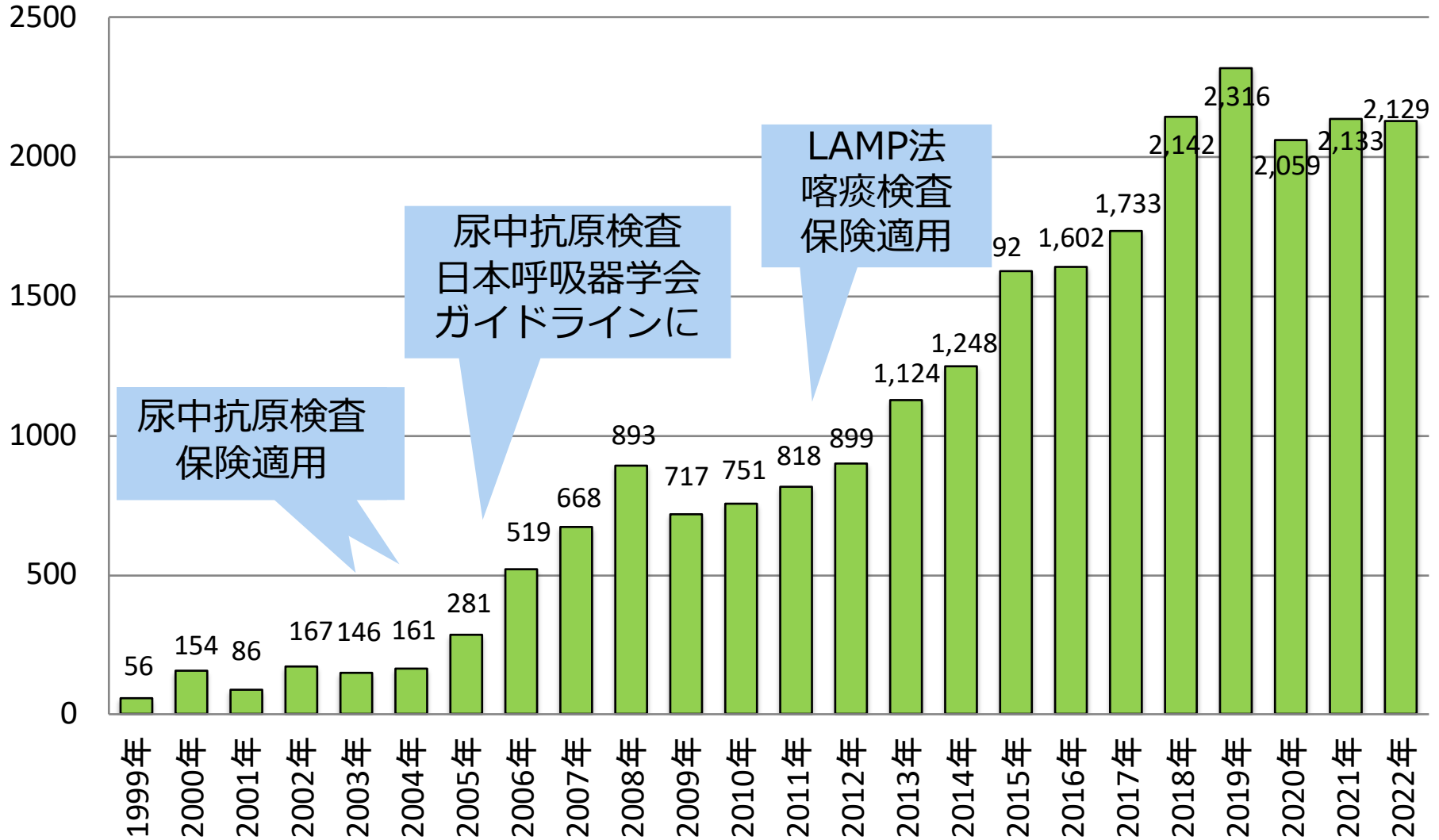
今日の議題

- レジオネラ症発生動向
- 臨床分離株の収集
- 昨年度活動報告
- 今年度活動予定
- 各支部報告
- トピックス

年別レジオネラ症報告数

(感染症発生動向調査)

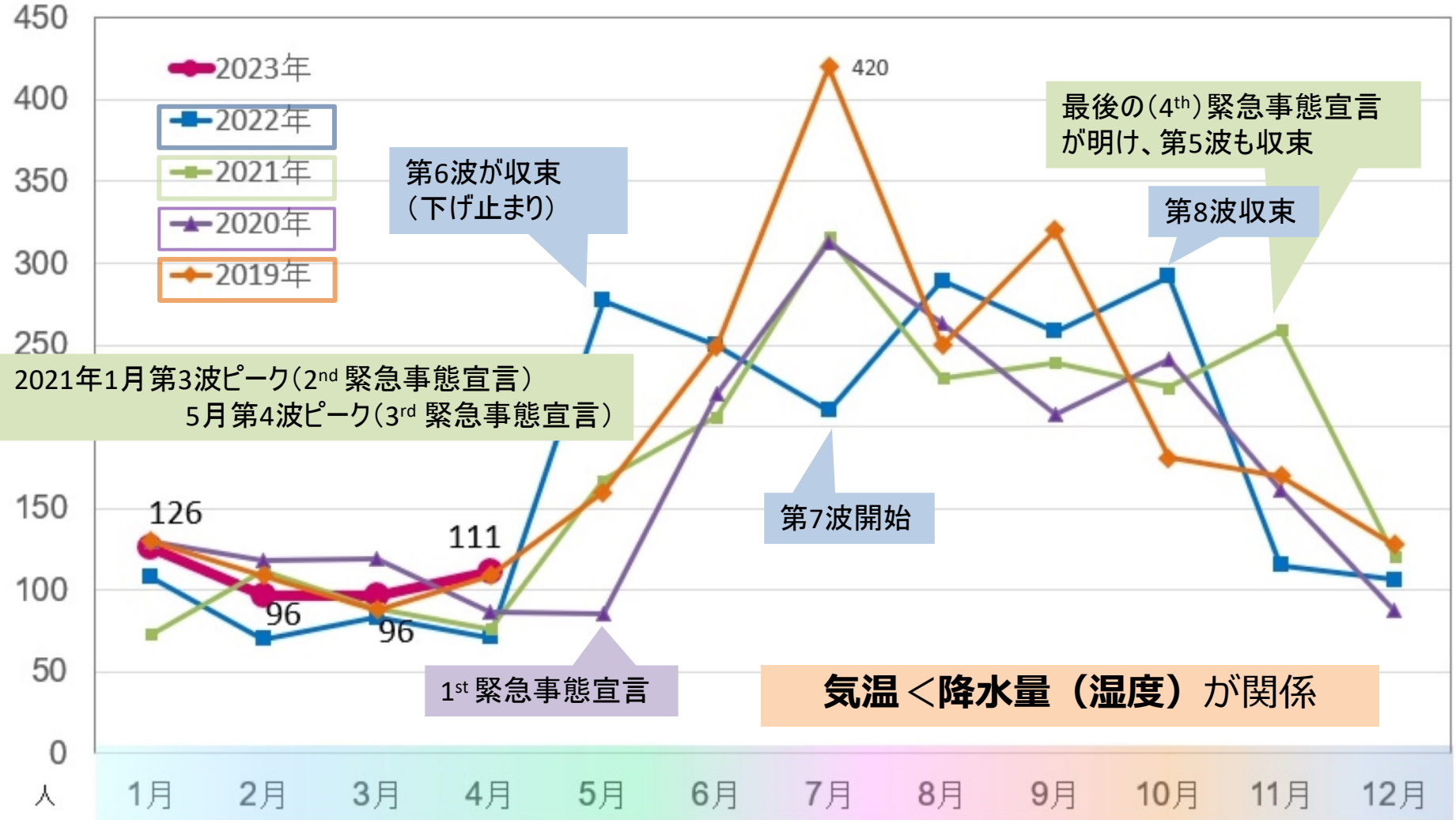
(報告数)



※1：1999年の報告数は4～12月までの数値である。

レジオネラ症報告数・月毎

報告数



※本グラフは国立感染症研究所発行「感染症発生動向調査・感染症週報」をもとに、協会が作成したものです

2007年8月よりレジオネラ臨床分離株の収集を行っている。

収集臨床分離株の内訳

2023年6月現在

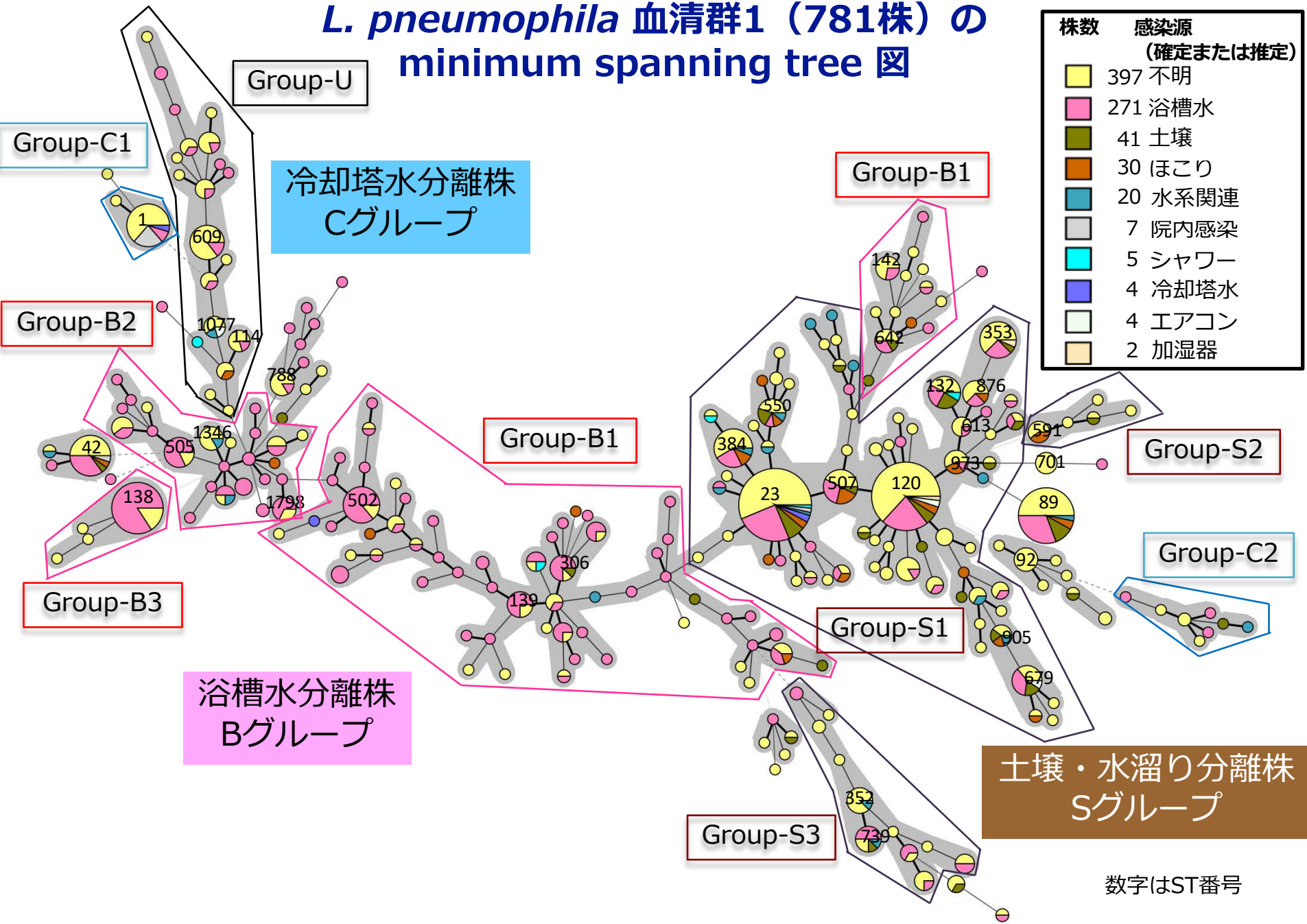
<i>L. pneumophila</i> 940株 (98.3%)		<i>L. anisa</i> 1株 (0.1%)
SG1 839株 (87.8%)	SG9 9株 (0.9%)	<i>L. bozemanai</i> 1株 (0.1%)
SG2 24株 (2.5%)	SG10 6株 (0.7%)	<i>L. dumoffii</i> 1株 (0.1%)
SG3 21株 (2.2%)	SG12 2株 (0.2%)	<i>L. feeleii</i> 2株 (0.2%)
SG4 4株 (0.4%)	SG13 2株 (0.2%)	<i>L. londiniensis</i> 1株 (0.1%)
SG5 13株 (1.4%)	SG14 1株 (0.1%)	<i>L. longbeachae</i> 9株 (0.9%)
SG6 13株 (1.4%)	SG15 1株 (0.1%)	<i>L. rubrilucens</i> 1株 (0.1%)
SG7 2株 (0.2%)		
SG8 2株 (0.2%)	UT* 1株 (0.1%)	

*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 956株 (100%)

SBTによる遺伝子型別結果は個別に報告

2023年3月までに国内で臨床から分離された *L. pneumophila* 血清群1 (781株) の minimum spanning tree 図



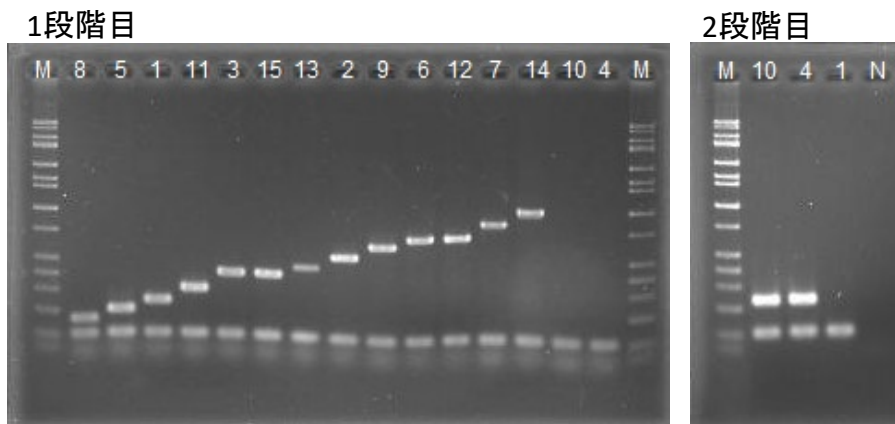
2022年度活動実績

- 市販されていないレジオネラ免疫血清の受注生産品（デンカ）の配布
 - レジオネラ・ニューモフィラ混合血清（混合1, 2, 3, 2-15群）
 - ロングビーチ1群、2群、
 - フィーレイ1群、2群、アニサ、ジオルダニス
 - ロンデニエンシス1群、2群、ボゼマニイ2群
 - セントヘレンシ1群、2群、ハックリー（1,2群混合）
- *L. pneumophila*血清型別M-PCR用プライマーセットの配布
- レジオネラ属菌検査外部精度管理
70地衛研等が参加

マルチプレックスPCRによる血清型別法

Legionella pneumophila の15血清群を12のグループに分けることができる。

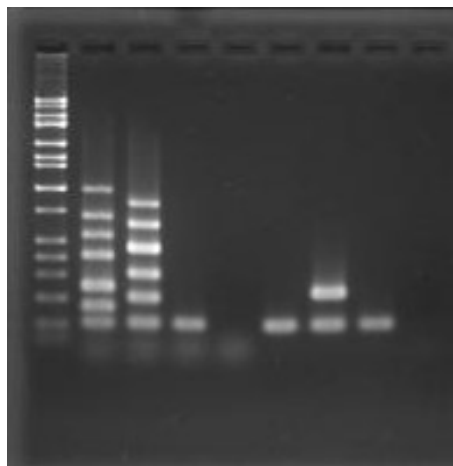
血清群1、血清群2、血清群3/15、血清群4/10、血清群5、血清群6/12、
血清群7、血清群8、血清群9、血清群11、血清群13、血清群14



M: Marker, 数字: 血清群, N: No Template Control

ファスマックのキット
プライマー & コントロールDNA

6月より販売開始



- Lane 1 Marker : Wide-Range DNA Ladder (TaKaRa bio, 3415A)
- Lane 2 Primer set1/PTC1 (下から5SrRNA, SG8, SG1, SG3/15, SG2, SG6/12, SG14)
- Lane 3 Primer set1/PTC2 (下から5SrRNA, SG5, SG11, SG13, SG9, SG7)
- Lane 4 Primer set1/SG4 (5SrRNAのみ)
- Lane 5 Primer set1/NTC
- Lane 6 Primer set2/PTC1 (5SrRNAのみ)
- Lane 7 Primer set2/PTC2 (5SrRNA、SG4/10)
- Lane 8 Primer set2/SG1 (5SrRNAのみ)
- Lane 9 Primer set2/NTC

図 : (株) ファスマック提供

2023年度活動予定

- 市販されていないレジオネラ免疫血清の受注生産品（デンカ）の配布
 - レジオネラ・ニューモフィラ混合血清
（混合1, 2, 3, 2-15群）
ロングビーチ1群、2群、
フィーレイ1群、2群、アニサ、ジオルダニス
ロンデニエンシス1群、2群、ボゼマニイ2群
セントヘレンシ1群、2群、ハックリー（1,2群混合）
- *L. pneumophila*血清型別M-PCR用プライマーセットの配布 **プライマー&コントロールDNA**
- レジオネラ属菌検査外部精度管理

レジオネラレファレンスセンター活動報告

<北海道・東北・新潟ブロック>

1) レジオネラ属菌外部精度管理サーベイについて

令和4年12月に希望する9地研(北海道2・青森県・岩手県・宮城県・仙台市・福島県・新潟県・新潟市)が参加した。

2) 班会議等への出席及び血清配布について

令和4年6月・12月にweb開催された、厚生労働科学研究「公衆浴場の衛生管理の推進のための研究」の研究班班会議への出席及びWGへの参加協力を行った。また、厚労科研費にて購入の免疫血清及び *L.pneumophila* の血清型別M-PCRプライマーセット及びコントロールをブロック内で希望する地研あてに配布した。

3) ブロック内レジオネラ患者発生状況及び感染研あて菌株送付について (表1・表2)

表1 感染症法による届出数(R4年)

	R4年
北海道(札幌市・函館市除く)	30
札幌市	15
函館市	5
青森県	11
秋田県	24
岩手県	26
宮城県(仙台市除く)	28
仙台市	39
山形県	25
福島県	35
新潟県	35
新潟市	12
合計	285

表2 感染研への菌株送付状況(R4年)

No	患者年齢	性別	菌種	血清群	その他
1	71歳	男	<i>L.pneumophila</i>	1	
2	48歳	男	<i>L.pneumophila</i>	1	
3	76歳	男	<i>L.pneumophila</i>	1	
4	85歳	男	<i>L.pneumophila</i>	1	
5	56歳	男	<i>L.pneumophila</i>	1	
6	77歳	男	<i>L.pneumophila</i>	2	
7	47歳	男	<i>L.pneumophila</i>	1	
8	62歳	女	<i>L.pneumophila</i>	1	
9	62歳	女	<i>L.pneumophila</i>	3	
10	62歳	女	<i>L.pneumophila</i>	10	
合計 株(No.1~3 新潟市、No.4~10 山形県)					

4) 各地研における検査状況について (詳細は、表3「R4年度 検査状況」参照)

5) 質問事項について

(1) 浴槽水のレジオネラ属菌の検査法として、LC EMA-qPCR法の導入を検討していますが、GVPC寒天培地を用いた培養検査法と比較して、定量値が低い傾向にあります。LC EMA-qPCR法を導入されている場合の定量値の取り扱いや、検査上の注意点などについて、知見がありましたらご教示をお願いしたい(新潟市)。

(2) 感染症事例への対応時に、「遺伝子検査陽性、培養検査陰性」という結果が出た場合、試験成績書でどのように報告しておられますか。(環境検体と臨床検体で報告方法が異なる場合は、それぞれお答えいただくと幸いです。)なお、当所の場合は、環境検体・臨床検体にかかわらず、遺伝子検査と培養検査の結果をそれぞれ記載し、総合的な判断は、依頼元の保健所に委ねています(北海道)。

表3 R4年度 検査状況

	検査数	内訳 (陽性検体数/検体数)											検出菌・血清群等					
		浴槽水	シャワー水	ふきとり	上がり湯	冷却塔水	給湯水	修景水	プール	貯水槽	その他	喀痰						咽頭拭い液
北海道	22											2/4(確定例) 0/9(疑い例) (陽性検体数は培養検査陽性の数)	0/9					・喀痰(診断確定例)から <i>L.p</i> SG1(2検体) 診断確定例:他2検体が遺伝子検査陽性・培養陰性 疑い例:3検体は遺伝子検査陽性・培養陰性、6検体は遺伝子検査陰性(培養検査未実施) ・鼻咽頭ぬぐい液1検体は遺伝子検査陽性・培養陰性、8検体は遺伝子検査陰性(培養検査未実施) ※遺伝子検査はCycleavePCR Legionella (16S rRNA) Detection Kit (タカラバイオ)使用
札幌市	10	1/6	0/3 シャワー・ カーン水						0/2									浴槽水 菌種・血清型不明
函館市	1	0/1																
青森県	2	0/2																
秋田県	68	8/64				1/2						0/2						浴槽水から <i>L.p</i> SG 1, <i>Legionella sp.</i> 冷却塔水から <i>L.p</i> SG 1
岩手県	30	2/29										0/1						浴槽水から <i>L.p</i> SG 3,6,8
宮城県	129	28/109			2/18							2/2						浴槽水から <i>L.p</i> SG1,2,3,4,5,6,7,8,9,12, UT, <i>L.londiniensis</i> SG1、 <i>Legionella sp.</i> 喀痰から <i>L.p</i> SG1 上がり用湯から <i>L.p</i> SG6,9
仙台市	14	1/2			0/5	4/5		0/1 噴水			0/1 原湯							浴槽水から <i>L.p</i> SGg8 冷却塔水から <i>L.p</i> SG1 , <i>L.p</i> SGg1
山形県	12											5/12						喀痰から <i>L.p</i> SG1、SG2、SG3、SG10
福島県	100	14/100																浴槽水から <i>L.p</i> SG 2, 3, 5, 6, 9
新潟県	17	3/3					8/14											浴槽水から <i>L.p</i> SG1, <i>L.p</i> 給湯水から <i>L.p</i>
新潟市	69	11/50				4/11						5/6					2/2	浴槽水から <i>L.p</i> SG1,3,5,6,12, <i>L.Dumoffii</i> 、 <i>L.micdadei</i> 、 <i>Legionella sp.</i> 冷却塔水から <i>L.p</i> SG1,6,7 喀痰から <i>L.p</i> SG1 菌株から <i>L.p</i> SG1
合計	474	68/366	0/3		2/23	9/18	8/14	0/1	0/2		0/1	14/36	0/9				2/2	

R4(2022)年度の関東甲信静支部活動状況

- 外部精度管理事業に22機関が参加
- 24機関にレジオネラ血清等試薬を配布
- 20機関にレジオネラ血清型別PCRプライマーセットを配布
- 現在、SBT検索ツールのデータベースを更新中。完了次第配布予定

令和5年度レファレンスセンター報告 東海北陸支部

富山県衛生研究所

人口10万人あたり報告数(2022年)

県	報告数	順位
富山	4.25	1
石川	4.15	2
福井	1.56	30
岐阜	2.53	8
愛知	2.17	22
三重	1.98	13

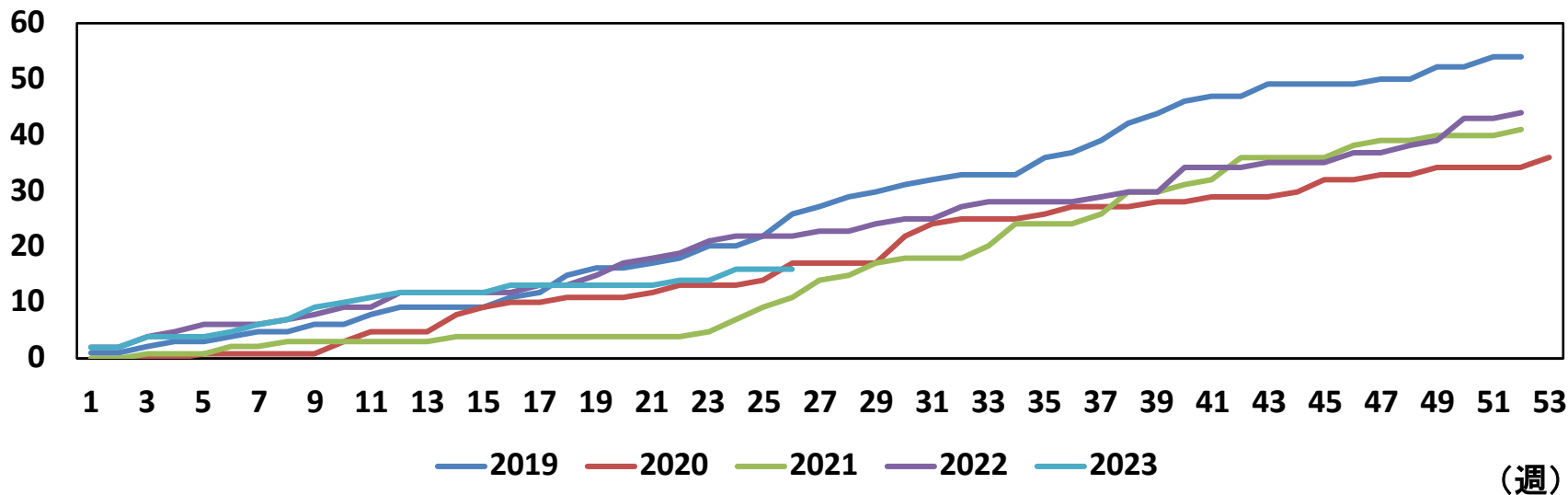
全国平均 1.70

人口10万人あたり報告数(過去5年間)

年	1位	2位	3位	全国平均
2018	岡山	富山	広島	1.67
	4.28	3.87	3.42	
2019	富山	群馬	長野	1.81
	4.97	3.78	3.03	
2020	岡山	富山	栃木	1.61
	4.12	3.32	3.14	
2021	石川	富山	山形	1.66
	3.88	3.78	3.42	
2022	富山	石川	茨城	1.70
	4.25	4.15	3.24	

(件)

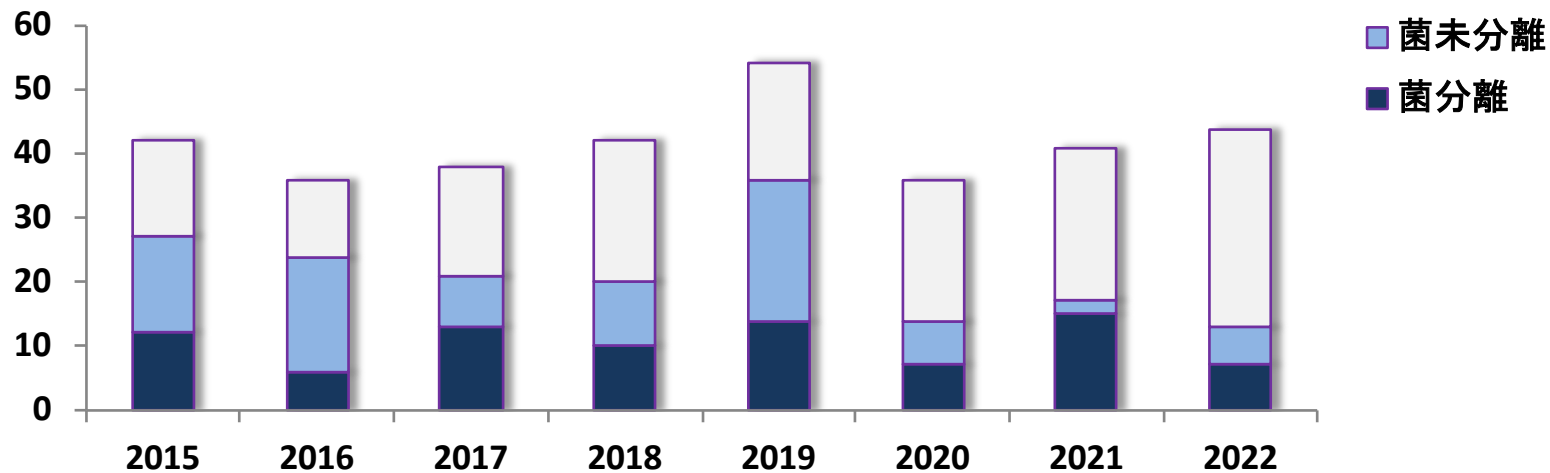
富山県 累積報告数



(週)

(件)

富山県 喀痰検査結果



感染研への菌株送付(富山県)

2022年 10株

No.	SG	Year	Month	flaA	pilE	asd	mip	mompS	proA	neuA	ST	Group
1	SG1	2021	Dec	7	6	17	10	13	11	6	1273	B2
2	SG1	2022	Jan	2	3	6	10	2	1	6	22	S1
3	SG1	2022	Jan	4	10	11	15	29	1	6	89	(S1)
4	SG1	2022	May	2	3	5	11	2	1	6	120	S1
5	SG1	2022	Jun	2	3	5	3	2	1	9	1186	S1
6	SG1	2022	May	7	6	17	3	11	11	9	505	B2
7	SG1	2022	Jul	12	8	11	21	40	12	9	1694	S3
8	SG1	2022	Sep	12	8	11	2	10	12	2	739	S3
9	SG1	2022	Nov	4	8	11	16	42	12	2	224	S3
10	SG1	2021	Oct	6	10	14	5	21	62	9	3177	B1

近畿ブロックの活動報告

1、レジオネラ属菌外部精度管理について

令和4年度12月に希望する11機地研が参加した。

和歌山市衛生研究所
奈良県保健研究センター
滋賀県衛生科学センター
姫路市環境衛生研究所
東大阪市環境衛生検査センター
京都市衛生環境研究所
和歌山県環境衛生研究センター
京都府保健環境研究所
堺市衛生研究所
神戸市健康科学研究所
尼崎市立衛生研究所

2、レジオネラ混合血清を11機関に配布

3、*L. pneumophila*の血清型別M-PCR試薬の案内

4、レジオネラ検査におけるフィルターの件

アドバンテック製のポリカーボネートフィルターが製造中止の連絡

メルクミリポア製への切替 4地研

5、近畿衛研ブロックのレジオネラ症届出数と検査状況 2022年

	滋賀県	京都市	大安研	堺市	東大阪市
届出数	33	24	110	11	7
喀痰等臨床検体 または菌株の検査数	0	0	臨床検体：7 菌株：3	0	0
臨床検体からの 分離数、()は 菌株数	0	0	3(3)	0	-
関連調査としての 検査等	2事例13検体	8	感染源疑い浴槽水 検査：8件	0	1施設で2事例、19検体 <i>Legionella pneumophila</i> 1群、3・6群、5群、6群 を検出
	神戸市	姫路市	奈良県	和歌山県	和歌山市
届出数	36	6	29	2022年第1週～第 52週：7名(和歌 山市除く) 2022年度：6名 (和歌山市除く)	10
喀痰等臨床検体 または菌株の検査数	9	0	1	0	5
臨床検体からの 分離数、()は 菌株数	7(4)	0	0	0	0(1)
関連調査としての 検査等	1事例60件	0	関連調査として浴 槽水等11検体を検 査し、6検体からレ ジオネラ属菌を検 出	44	3

6、感染研への菌株送付（神戸市）

2022年 7株

- ・ *L. pneumophila* 血清群1 3株
- ・ *L. pneumophila* 血清群2 2株
- ・ *L. pneumophila* 血清群6 1株
- ・ *L. longbeachae* 血清群1 1株

菌株No.	性別	年齢	菌種	血清型	遺伝子型
KL2216	男	88	<i>L. pneumophila</i>	SG6	ST1994
KL2239	男	72	<i>L. pneumophila</i>	SG1	ST138
KL2335	男	52	<i>L. pneumophila</i>	SG2	ST354
KL2345	男	73	<i>L. pneumophila</i>	SG1	ST591
KL2346	男	67	<i>L. pneumophila</i>	SG1	ST736
KL2358	男	85	<i>L. longbeachae</i>	SG1	
KL2436	男	67	<i>L. pneumophila</i>	SG2	ST354

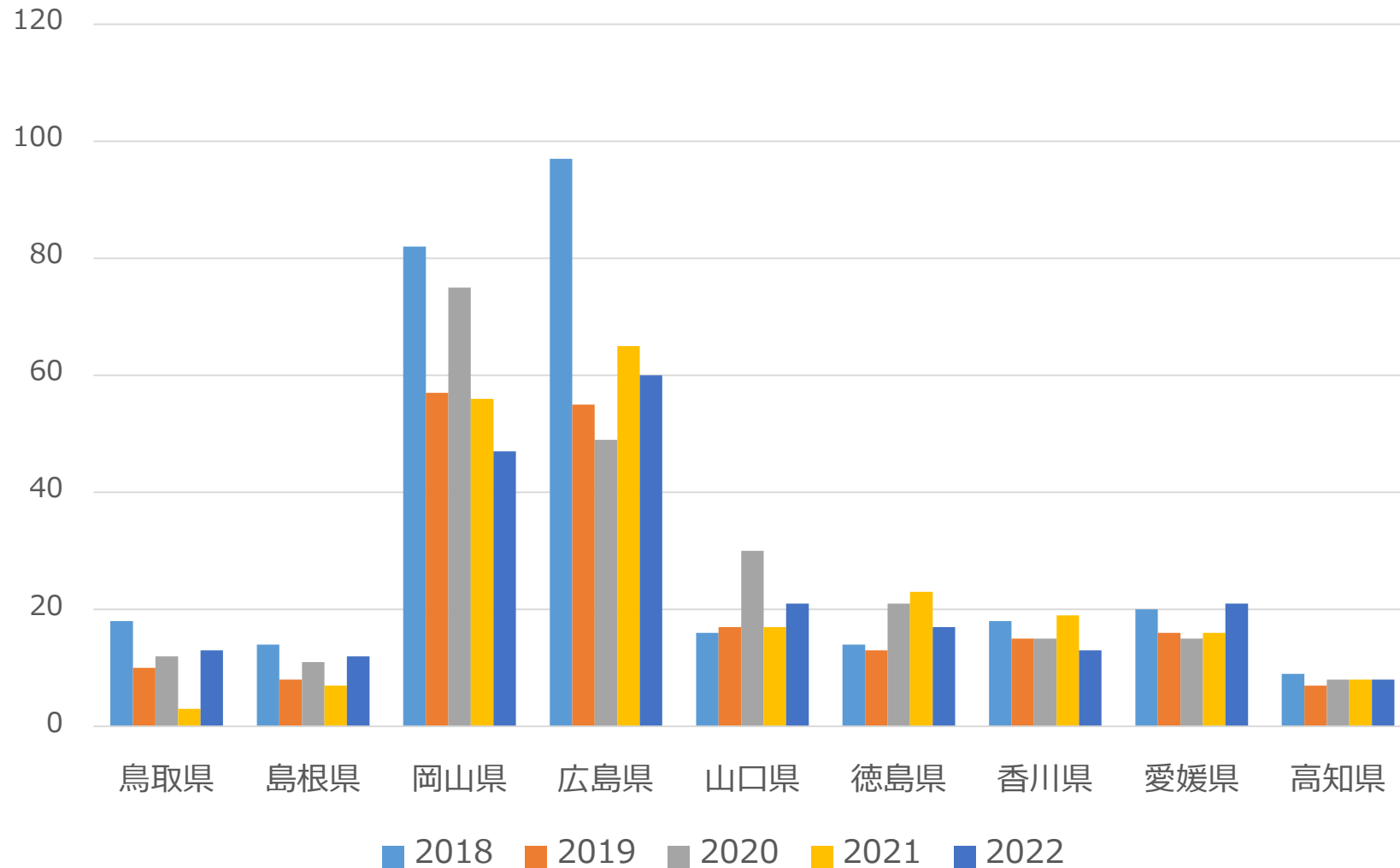
中四国支部報告

広島県立総合技術研究所保健環境センター

令和4年度レファレンスセンター活動内容

- 「公衆浴場等施設の衛生管理におけるレジオネラ症対策に関する研究」班会議への参加（Web開催）
- 中四国支部の外部精度管理参加募集
- レジオネラ免疫血清の配布
- 血清群型別用マルチプレックスPCR試薬の配布
- 一部施設にSBT解析ツールの再配布

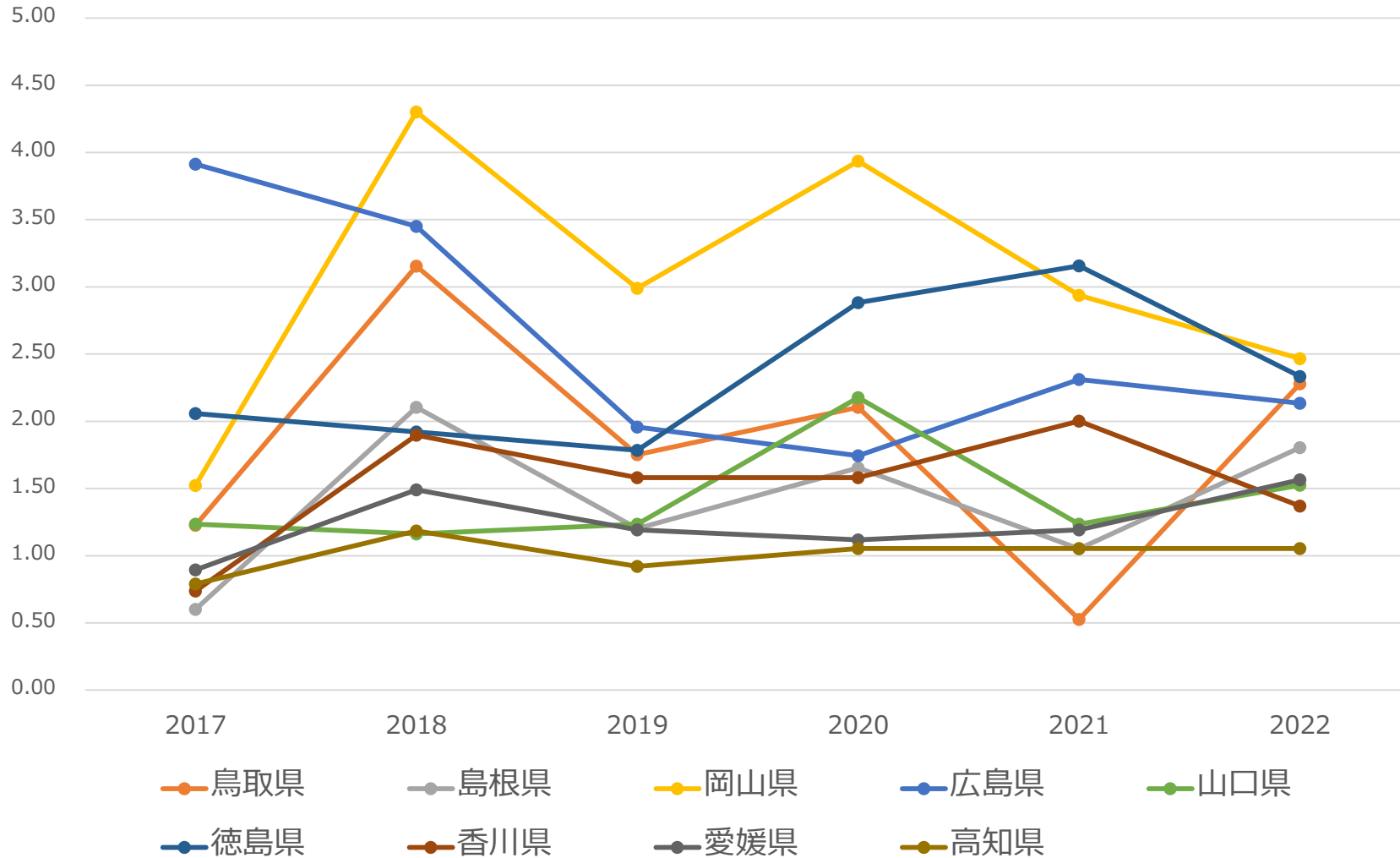
中四国地方のレジオネラ症届出数 (実数)



2021年報告数(52週時点)

	報告数	全国順位
鳥取県	13	39
島根県	12	43
岡山県	47	20
広島県	60	13
山口県	21	33
徳島県	17	36
香川県	13	40
愛媛県	21	34
高知県	8	46

中四国地方のレジオネラ症届出数 (10万人対)

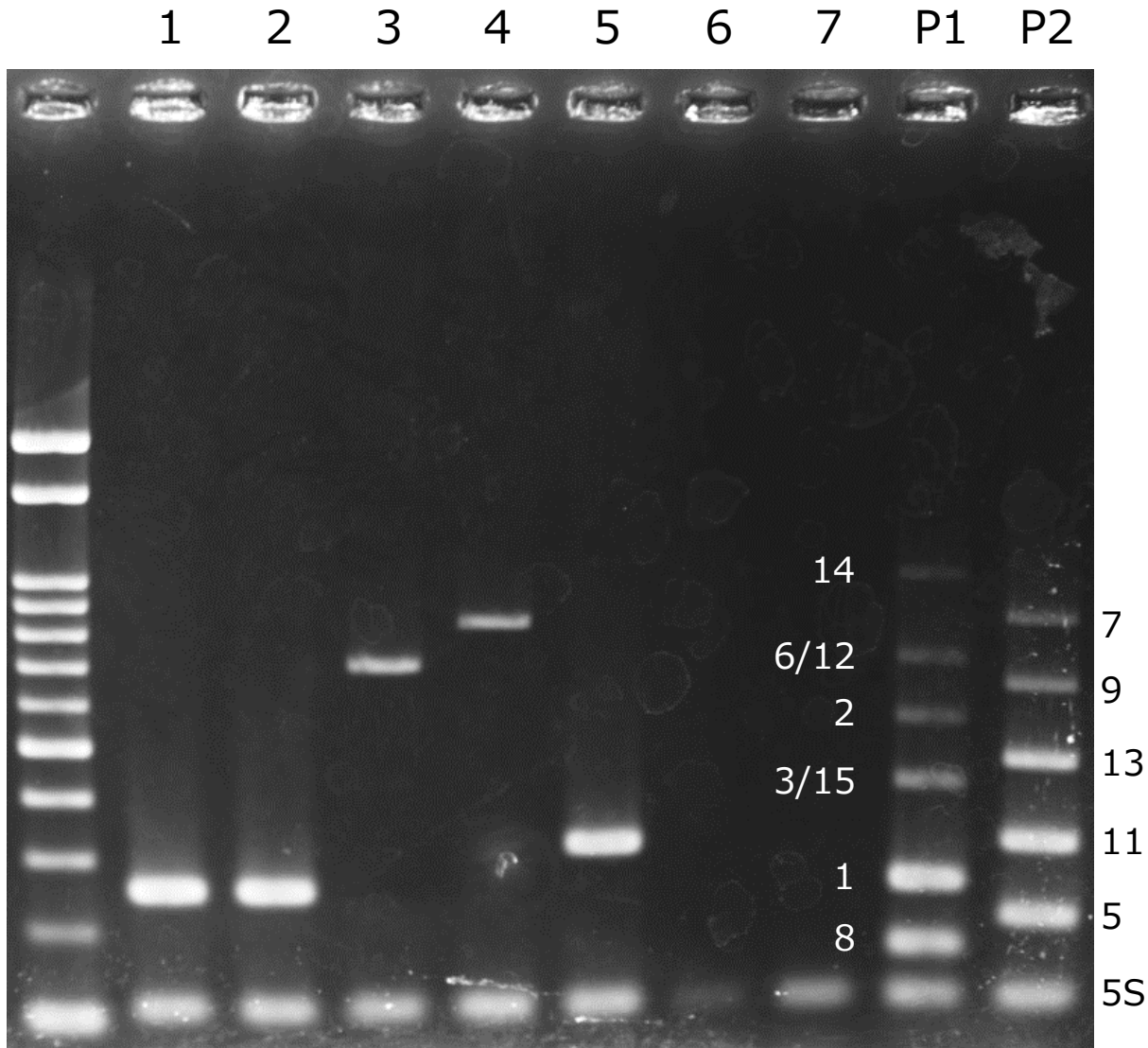


2021年報告数(10万人対)

	報告数	全国順位
鳥取県	2.28	11
島根県	1.80	25
岡山県	2.47	8
広島県	2.13	15
山口県	1.52	32
徳島県	2.33	12
香川県	1.37	38
愛媛県	1.56	30
高知県	1.05	43

全国平均 **1.69**

血清群型別用マルチプレックスPCRの検討



1: *L. pneumophila* SG1
2: *L. pneumophila* SG1
3: *L. pneumophila* SG6
4: *L. pneumophila* SG7
5: *L. pneumophila* SG11
6: *L. quinlivanii*
7: *L. busanensis*
P1: PTC1
P2: PTC2

- 種・血清群が明らかな株を使用
※1段階目のPCRのみ実施
- すべての株で免疫血清の結果と一致
- 他のレジオネラ属菌では5Sのみ検出

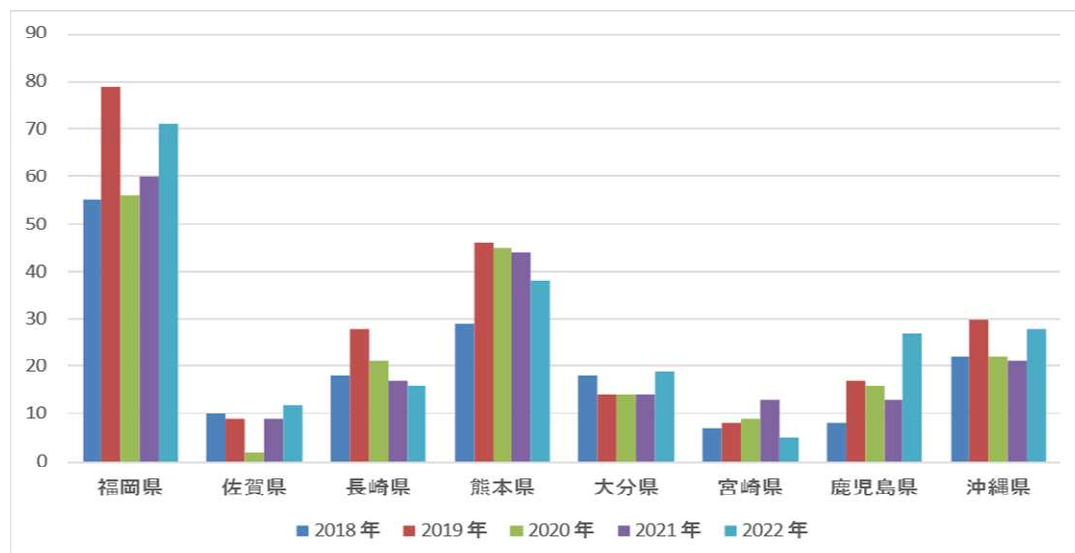


すべての検体で想定通りの結果を示した

血清群別用マルチプレックスPCRの使用感

- 非特異バンドがみられず判定が容易
- 一度のPCRでSG 4/10以外の血清群を判定可能
- 免疫血清と比較して多検体の型別を行いやすい
- バンドの位置が近く、判定が困難な場合がある
 - 〔 ポジコンは2つとも必ず泳動
 - 〔 両端にラダーを添加
 - 〔 普段よりも長めに泳動

1.九州ブロックにおけるレジオネラ患者発生状況(年)



	2018	2019	2020	2021	2022
福岡県	55	79	56	60	71
佐賀県	10	9	2	9	12
長崎県	18	28	21	17	16
熊本県	29	46	45	44	38
大分県	18	14	14	14	19
宮崎県	7	8	9	13	5
鹿児島県	8	17	16	13	27
沖縄県	22	30	22	21	28
九州計	167	231	185	191	216
全国	2142	2316	2058	2131	2144

2.令和4年度の活動状況

- ・「公衆浴場等施設の衛生管理におけるレジオネラ症対策に関する研究」 班会議への参加
- ・レジオネラ属菌外部精度管理調査への参加協力依頼
九州ブロック：10 地研の参加
- ・免疫血清の配布
本県を除く 8 地衛研へ配布した。
- ・血清型別 Mutiplex-PCR 用プライマーキットの配布
本県を除く 9 地衛研へ配布した。

レジオネラ属菌培養検査 精度管理について



地方独立行政法人
大阪健康安全基盤研究所
衛生化学部 生活環境課
枝川 亜希子

はじめに

- 精度管理とは QC : Quality Control

検査機関等による、試料の採取から目的物質の測定結果の報告までの一連の作業（検査）について、「一定の水準が維持されているか」、「他の施設との互換性があるか」を担保するための管理・判断の仕組みのこと

その施設内部で行う**内部精度管理**と第三者機関がチェックを行う**外部精度管理**がある

2022年度外部精度管理 レジオネラ培養検査

厚生労働科学研究「公衆浴場の衛生管理の推進のための研究」の一環で、日水製薬株式会社が実施する「2022年度 レジオネラ属菌検査精度管理サーベイ」に参加

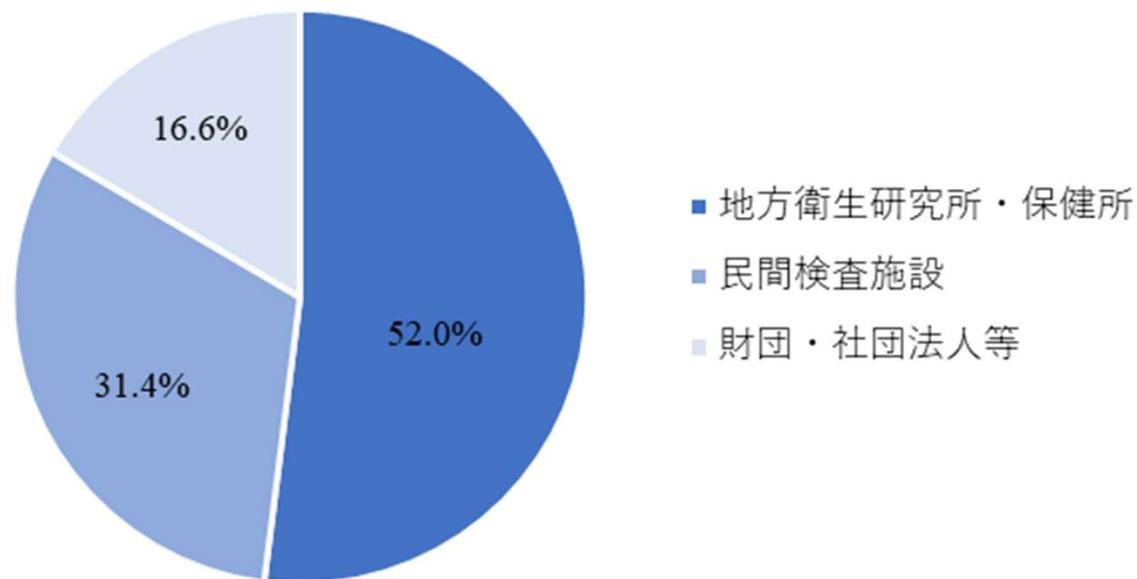
- 募集参加機関：地方衛生研究所等70施設
- 試料発送：2022年11月28日
- 回答期限：2022年12月27日



参加施設内訳

日水製薬サーベイ参加全体 175施設181名

地方衛生研究所・保健所	91施設 (52.0%)
民間検査施設	55施設 (31.4%)
財団・社団法人等	29施設 (16.6%)



(3)濃縮検体 ろ過濃縮法のZスコア傾向*

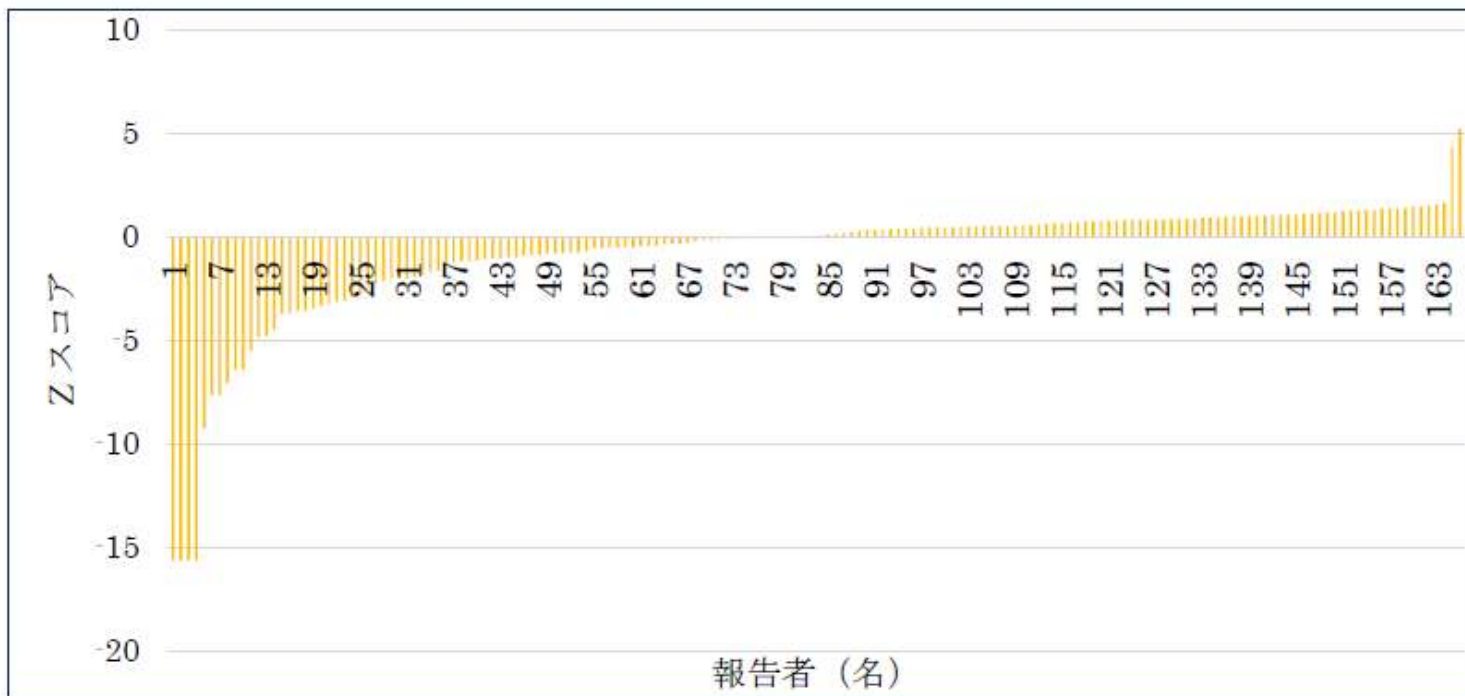
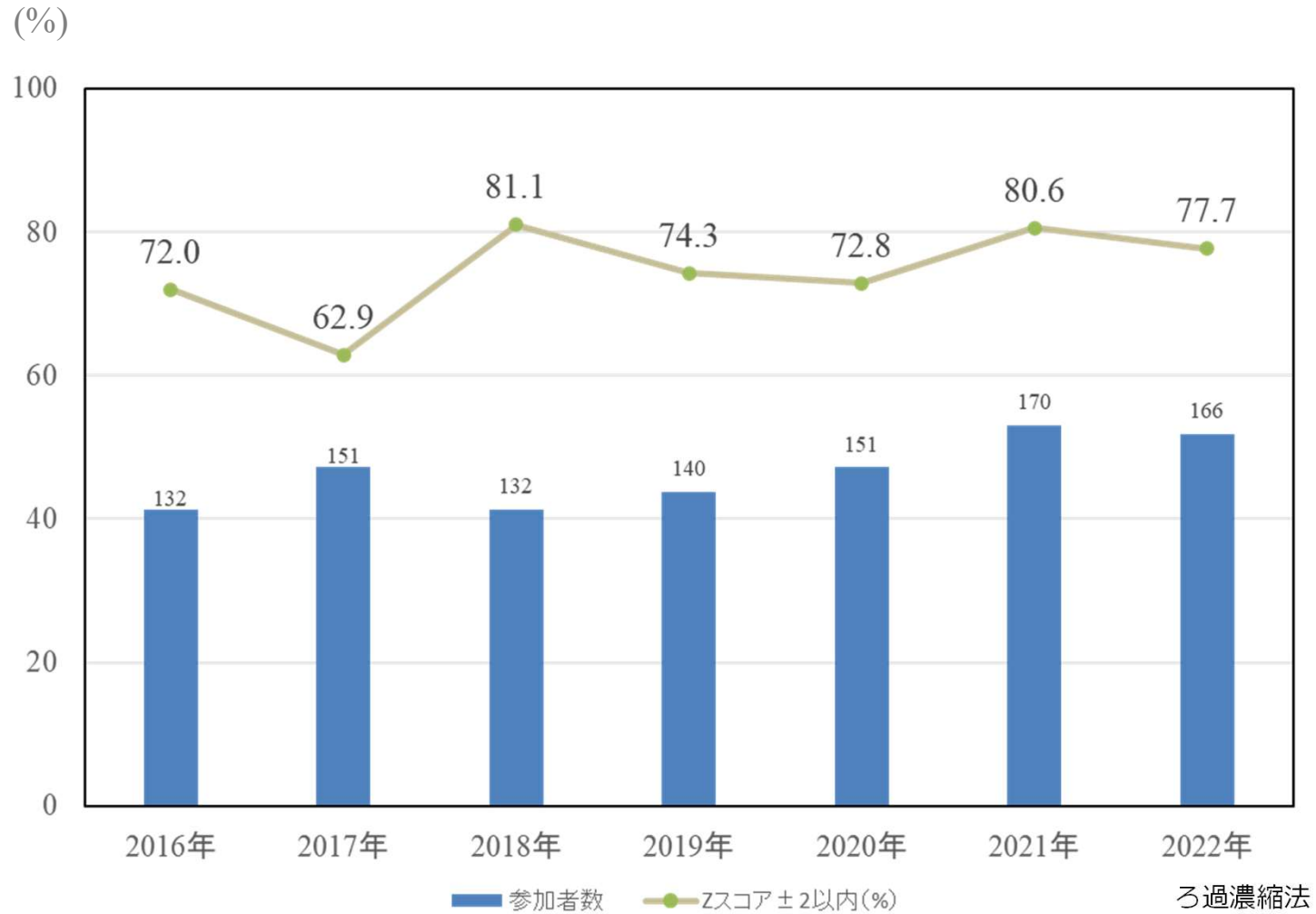


図13 濃縮検体 ろ過濃縮法のZスコアバーチャート
最終報告値の平均値：10200cfu/100mL(対数值 4.01)

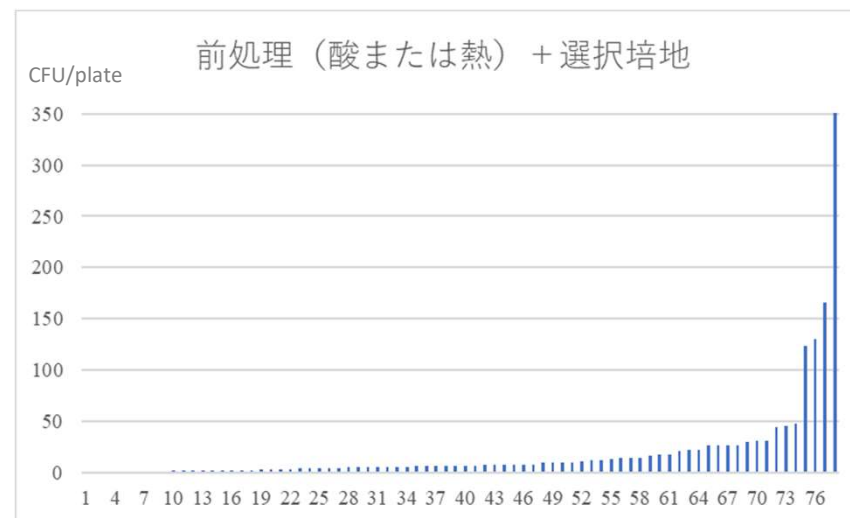
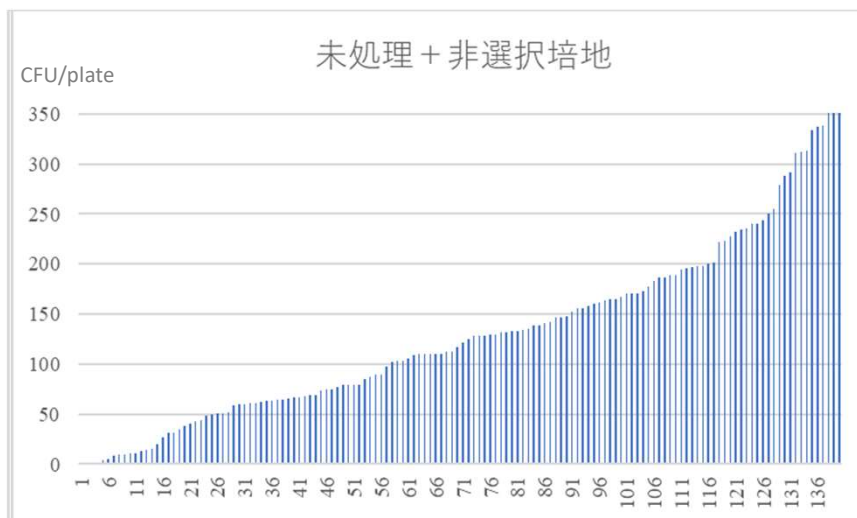
	参加者数	Z-score	
		-2<Z<2	範囲外
地衛研等	68	56 (82.4 %)	12 (17.6 %)
その他	98	73 (74.5 %)	25 (25.5 %)
全体	166	129 (77.7 %)	37 (22.3 %)

年度別Zスコア±2以内の割合 (%)



地衛研参加分 (2021年度・2022年度)

菌数 CFU/plate	未処理 非選択培地 (n=140)	前処理 (酸または熱) 選択培地 (n=97)
0	2	19
1-29	14	61
30-99	41	13
100-199	58	3
200-299	16	0
300-500	9	1



レファレンスセンター募集の外部精度管理

これまで、厚生労働科学研究の一環で参加機関を募集（無償）
データの蓄積・各機関での検査技術維持向上に活用

研究班の研究期間は3年のため、3年毎に見直しあり
できるだけ、外部精度管理募集を継続させたい方針
地衛研全体の検査技術の維持向上に繋げる

各機関が希望に合った外部精度管理を選べるように
選択肢の整備が必要 → 現在進めているところ

日本から参加可能な外部精度管理 3種

- レジオネラ属菌検査精度管理サーベイ
(島津ダイアグノスティクス株式会社 旧日水製薬)
- FAPAS Food Analysis Performance Assessment Scheme
(英国食料環境研究庁 Fera : The Food and Environment Research Agency)
- EQA The external quality assessment (EQA) legionella isolation scheme
(英国健康安全保障庁 UKHSA : UK Health Security Agency)

内部精度管理の手引き

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3(2021)年度 <https://mhlw-grants.niph.go.jp/project/159647>

入浴施設の環境水におけるレジオネラ属菌検査の内部精度管理のための手引き

別添資料1

環境水中のレジオネラ属菌を計測する方法として、令和元年9月19日薬生衛発0919第1号厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生課長通知の別添「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」が示された。その中に、検査には「信頼性確保のため、精度管理を実施することが求められている」と記載されている。また、内部精度管理の一例として回収率の確認方法について示されている。この手引きではその確認方法を具体的に示した。この手引きを参考にして、自施設で内部精度管理標準作業書等を作成し、精度管理を遂行することが望ましい。

1. 目的

入浴施設の環境水におけるレジオネラ属菌検査の信頼性を担保するため、検査精度を確認し、検査担当者の技術水準を維持、向上させることを目的とする。

2. 概要

レジオネラ属菌を添加した内部精度管理用試料水（以下、試料水）について、レジオネラ属菌検査（培養定量）を自施設の検査標準作業書に従って行い、検査結果と添加菌数から回収率を算出して評価する。合わせて、検査手技の安定性を確認する。

11. 入浴施設の環境水におけるレジオネラ属菌検査の内部精度管理のための手引きの作成
○磯部順子（富山県衛生研究所）他