

山梨県内で分離されたレジオネラ属菌の PFGE 解析結果について

柳本 恵太, 植松 香星

Molecular Epidemiological Analysis of *Legionella pneumophila* Isolated from Environmental Waters or Patients with Legionellosis in Yamanashi Prefecture

Keita YANAGIMOTO and Kosei UEMATSU

キーワード：PFGE, レジオネラ, 環境由来株, 臨床分離株

方 法

レジオネラ属菌はレジオネラ症の原因となるグラム陰性桿菌である。レジオネラ症は肺炎型とポンティアック熱型があり、肺炎型は重篤な症状を引き起こすことがある。全国的に 2005 年から年々増加傾向にあり、速報データで 2013 年には報告数が 1000 を超えた¹⁾。山梨県内においてもレジオネラ症は増加傾向にあり、2012 年には患者数が 11²⁾で人口を約 85 万人とすると 10 万人あたりの患者数が初めて 1 を超えるなど全国的にも高い水準となりつつある。レジオネラ症の主要な感染源は浴槽水であり、山梨県には温泉地が複数存在するが、それぞれから分離されたレジオネラ属菌の分子疫学的解析はこれまで行われていない。

そこで、感染源の推定のための基礎資料及び、衛生指導の一助とするべく県内の公衆浴場等施設から分離されたレジオネラ属菌及び臨床分離株のパルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) を実施し、同菌の分布状況を把握することとした。

1 使用菌株

使用菌株は 2000 年から 2013 年に分離された山梨県内公衆浴場等施設の原水、浴槽水、ふきとり由来菌株および、県内臨床分離株のうち比較的分離数の多かった *Legionella pneumophila* SG1、SG3、SG5、SG6 の計 56 株とした (表)。各菌株は分離された 5 つの地域ごとに分類し、公衆浴場等施設についても地域ごとに中北 (C-1 ~ C-5)、峡北 (N-1 ~ N-8)、峡東 (E-1 ~ E-12)、峡南 (S-1 ~ S-2)、富士・東部 (F-1 ~ F-10) とした。

2 レジオネラ PFGE

PFGE は「レジオネラ症防止指針第 3 版³⁾」に準じて血清型ごとに行い、結果が不明瞭な株はリゾチームを用いて溶菌した。結果の解析は Quantity One (Bio-Rad) により行った。

表 使用菌株

	中北	峡北	峡東	峡南	富士・東部	臨床分離	合計
SG1	3	4	9	2	6	3	27
SG3			5	1	3		9
SG5	2	2	4		5		13
SG6		2	3		2		7
合計	5	8	21	3	17	3	56

結果及び考察

PFGE 解析の結果を図 1～図 4 に示した。SG1、SG3 では異なる施設由来の菌株間では概ね異なる PFGE パターンを示したが、SG1 の E-1 と E-2、SG3 の E-1 と E-4 由来株ではパターンが一致した（図 1、図 2）。関連性については調査中であるが、これらの施設は同一地域にあることから、パターンに地域性がある可能性も考えられた。一方、SG5、SG6 については異なる施設由来でありながら近似度が 90%以上である菌株の組み合わせが SG5 の N-5 と F-1、E-10 と N-6、SG6 の E-2、E-11、E-12 及び、F-9 と F-10 由来株で確認された（図 3、図 4）。SG5 の N-5 と F-1 及び、E-10 と N-6 由来株については分離地域が大きく離れており、山梨県内で広範囲に分布しているパターンである可能性が考えられた。また、SG6 の E-2、E-11、E-12 と F-9、F-10 由来株については同一地域で分離されており、パターンに地域性がある可能性が考えられた。

同一施設由来の菌株は SG5 の F-6 由来株を除くと同一パターンを示しており、特に SG1 の S-1 では 2003 年と 2010 年に分離された菌株のパターンが一致した。また、SG1 の F-2 の洗い場床ふきとり由来株とふきとりから 1 ヶ月後の浴槽水由来株のパターンが、SG3 の F-5 のシャワーヘッドふきとり由来株とふきとりの 6 ヶ月前の浴槽水由来株のパターンがそれぞれ一致した（図 1、図 2）。これらの結果より、これらの施設におけるレジオネラ汚染の持続性と浴槽水から施設内への汚染範囲の拡大が考えられた。

臨床分離株では、今回解析を行った 3 株のうち 2012 年 10 月分離株と 2013 年 7 月分離株のパターンが一致したが、3 株とも浴槽水等由来株との関連性は確認できなかった（図 1）。臨床分離株由来患者の感染源は疫学調査の結果、公衆浴場等を利用していないことなどから不明であり、今回の結果からも公衆浴場等施設が感染源であると推定はできなかった。パターンが一致した 2 株については由来患者住所が同一地域で近傍であることから、今後も更なる調査が必要である。

今回の結果から山梨県内公衆浴場等施設由来レジオネラの SG1、SG3 については施設、または地域ごとに PFGE パターンに特徴があり、感染源推定のための基礎資料となる可能性が考えられた。一方で SG5、SG6 については今後解析菌株数を増やし県内に広範囲に分布していると考えられるパターンの分布や数などより詳細なデータを得る必要があると考えられる。また、SG1、SG3、SG6 でみられた地域性の可能性についても同様に更なる解析により傾向を把握することができれば有用であると考えられる。衛生指導の一助としては、ふきとり検査の実施や一施設に時期を変えた複数回の採水を行うことにより、持続的な汚染や施設内の汚染の分布を明らかにすることができた。これにより源水の適切な処理や、施設の清掃消

毒の徹底などを指導する上で理解の得やすいデータを示すことができると考えられた。

今回の解析は PFGE を用いているが、近年の SBT (sequence-based typing) 法での解析の結果では、レジオネラ属菌は由来ごとにグループを形成することが明らかにされており⁴⁾、今後は PFGE 以外の方法も取り入れた解析を併用することにより、信頼性の高い基礎資料や衛生指導のデータとして活用できるよう努力していきたい。

まとめ

- ・SG1、SG3、SG6 については施設、または地域ごとに PFGE パターンに特徴があり、感染源推定のための基礎資料となる可能性が考えられた。
- ・SG5 では県内に広範囲に分布していると考えられるパターンがあり、今後さらなる解析が必要であると考えられた。
- ・同一施設で異なる分離日・分離箇所の菌株間でパターンが一致しており、汚染の持続性と施設内の汚染範囲の拡大が考えられた。
- ・臨床分離株では浴槽水等の分離株との関連性は確認されなかったが、3 株中 2 株でパターンが一致しており、2 菌株由来患者住所が非常に近いことから更なる調査が必要であると考えられた。

参考文献

- 1) 国立感染症研究所 IDWR 速報データ 2013 年第 52 週：
<http://www.nih.go.jp/niid/ja/allarticles/surveillance/239-idwr/data/4172-idwr-sokuho-data-j-1352.html>
- 2) 国立感染症研究所 IDWR 速報データ 2012 年第 52 週：
<http://www.nih.go.jp/niid/ja/allarticles/surveillance/239-idwr/data/3063-idwr-sokuho-data-j-1252.html>
- 3) 財団法人ビル管理センター：レジオネラ症防止指針 第 3 版，107-108，(2009)
- 4) Junko Amemura-Maekawa et al. : Journal of Medical Microbiology, 59, 653-659, (2010)

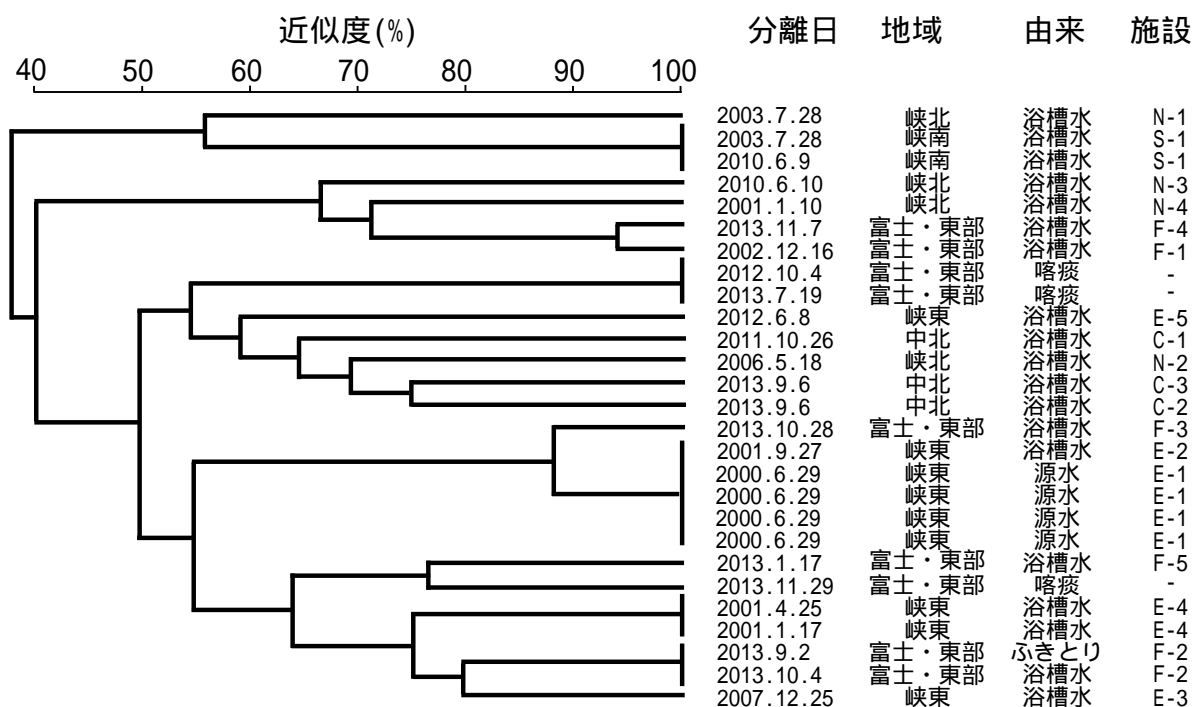


図1 SG1の系統樹

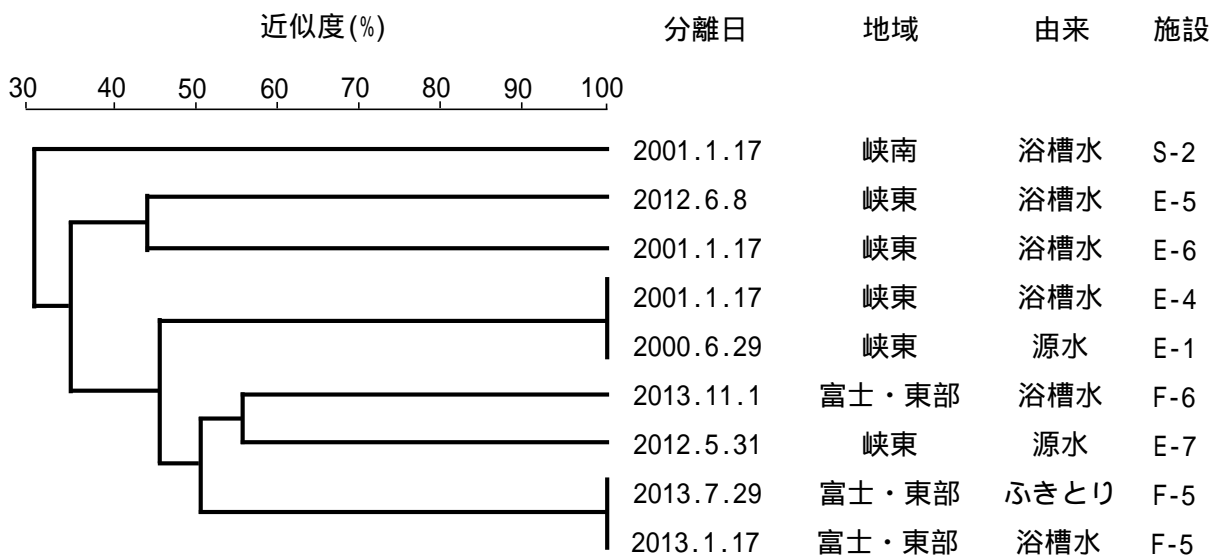


図2 SG3の系統樹

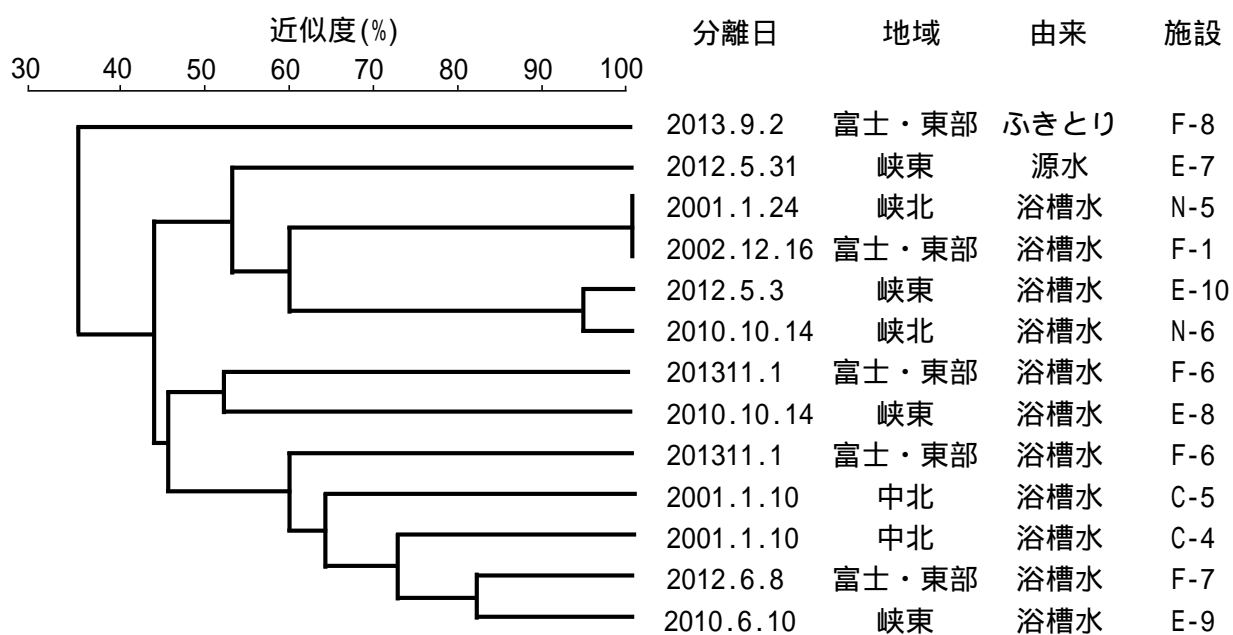


図3 SG5の系統樹

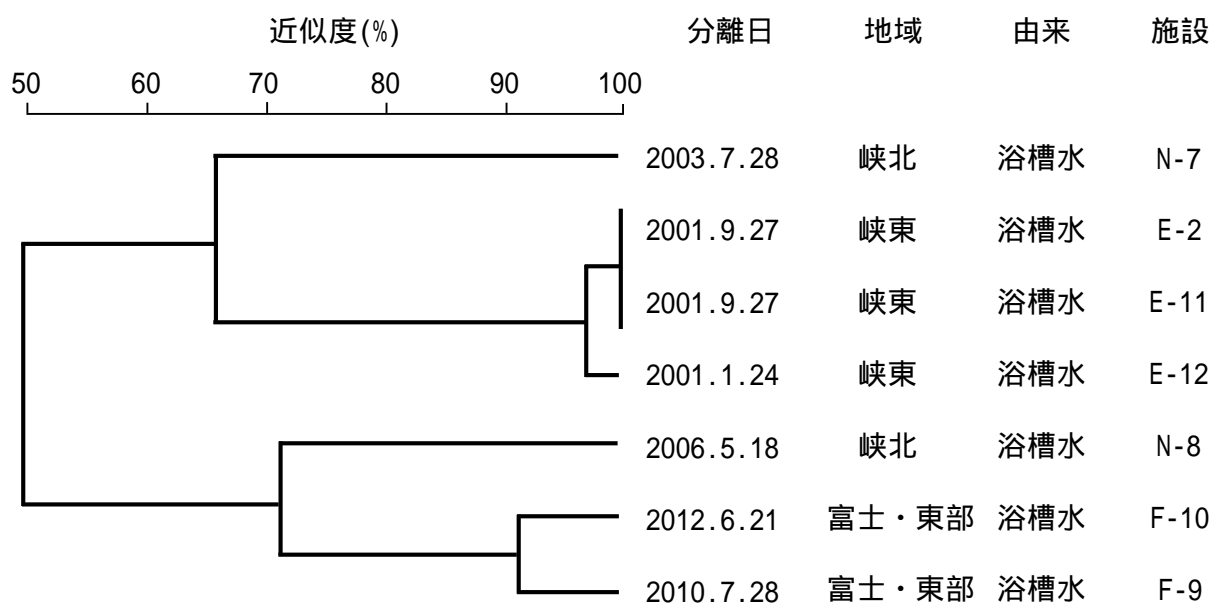


図4 SG6の系統樹