

愛媛県で分離されたレジオネラ属菌株の分子疫学解析

矢儀田優佳 氏家絢子 浅野由紀子 青木紀子 阪東成純*1 滝山広志 四宮博人

Key Words : *Legionella pneumophila* , Sequence - based typing , Minimum spanning tree

愛媛県内のレジオネラ症患者は、2006年～2022年の17年間に184例報告されている。そのうち、感染経路が確定している事例は2例(1.1%)に過ぎず、推定が65例(35.3%)、不明が117例(63.6%)であり、ほとんどの事例で感染経路が明らかとなっていない。

今回、感染源や感染経路の特定に有用な分子疫学的手法を確立するため、当所で保存している *Legionella pneumophila* 分離株のうち、環境由来61株及び臨床由来2株の計63株について、ハウスキーピング遺伝子である7遺伝子領域 (*flaA*, *pilE*, *asd*, *mip*, *mompS*, *proA*, *neuA*) を対象にした Sequence - based typing 解析を実施し、病原微生物遺伝子情報系統解析システム (BioNumerics) を用いてデータベースを構築した。構築したデータベースを基に Minimum spanning tree を作成した結果、環境由来株は、冷却塔及び入浴施設由来グループ、入浴施設由来グループ、土壌等由来グループの3グループに大別され、臨床由来株は全てのグループに分布した。今回の分子疫学解析手法を活用することで、感染源や感染経路の推定に有用な情報が得られる可能性が示された。

はじめに

レジオネラ症は、*Legionella pneumophila* (以下、*L. pneumophila*) に代表されるレジオネラ属菌による細菌性呼吸器感染症で、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 (以下、感染症法) における四類感染症の全数把握対象疾患に定められている。レジオネラ症の患者報告数は年々増加しており、全国では2018年以降2000件以上の報告が続いている¹⁾。愛媛県においても増加傾向を示し、2022年は21件と過去最多となった。

レジオネラ症の潜伏期間は2～10日と比較的長いことに加え、健常者ではかぜ様症状のみを示すポンティアック熱の場合が多く、糖尿病や高血圧などの基礎疾患で重症化するなど、患者側の要因が発症に影響することから、感染源、感染経路の特定が難しい疾患である²⁾。

レジオネラ症の感染源としては、入浴施設、加湿器、

冷却塔等が知られているが、近年では園芸腐葉土やカーエアコン、高圧ポンプ等、多種多様な環境由来感染事例が報告³⁻⁸⁾されている。また、高濃度にレジオネラ属菌に汚染された入浴施設ではレジオネラ症の集団発生を引き起こしやすいため、患者由来株と原因施設由来株の分子疫学解析により感染源が確定された事例が多い⁹⁾。しかし、散発事例では、潜伏期間の長さから行動調査による感染源の絞り込みが難しく、感染源が不明あるいは推定で終わる場合が多い。そのため、具体的な感染対策を講じにくいことが、感染事例が減少に転じない要因の一つであると考えられる。

レジオネラ症発生時に実施する疫学調査に併せて患者由来分離株の遺伝子情報を解析し、感染要因が推定できれば、さらに踏み込んだ疫学調査が可能となり、感染源の解明につながることを期待される。分子疫学手法として、従来はパルスフィールドゲル電気泳動 (以下、pulsed - field gel electrophoresis : PFGE) 解析による菌株の同一性を解析していたが、他施設とのデータ共有が困難なことから汎用性は低い。一方で、近年実施されているゲノム解析は、高精度のデータを得ること

愛媛県立衛生環境研究所 東温市見奈良1545番地4

*1 愛媛県保健福祉部健康衛生局業務衛生課

が可能であるが、操作が煩雑で高額な費用が必要となる。

そこで、既に患者由来株及び環境由来株の蓄積があり^{10,11)}、分子疫学調査の手法として活用されている Sequence - based typing (以下、SBT 解析) を用いて県内の環境由来株及び患者由来株を解析した結果、感染経路の推定に十分活用可能であると考えられたため、その概要を報告する。

材料と方法

1 愛媛県内患者報告数

2006 年～2022 年の間に、愛媛県感染症発生動向調査事業で報告のあった 184 例を解析に用いた。

2 使用菌株

(1) 環境由来株

行政検査として搬入された検体から分離された *L. pneumophila* 保存株のうち、全国において患者報告数の多い血清群 (以下、Sero Group : SG) 1 から 36 株、SG1 に次いで多数報告のある SG5 から 12 株、SG6 から 13 株の計 61 株を使用した (表 1)。菌株の由来は入浴施設が 60 株、冷却塔が 1 株であった。

(2) 臨床由来株

愛媛県感染症発生動向調査事業及び行政検査として搬入された当所保存臨床由来株 *L. pneumophila* 2 株 (いずれも SG1) を使用した (表 1)。

3 方法

(1) 鋳型 DNA の調整

BCYE α 寒天培地上に発育した単コロニーを釣菌し、50 mM NaOH 溶液 85 μ L に懸濁、100°C 10 分間加熱後、1 M Tris 塩酸緩衝液 15 μ L を添加して中和し、12000 rpm 10 分間遠心分離した上清を鋳型 DNA とした。

(2) PCR 法

国立感染症研究所病原体検出マニュアル「レジオネラ症」¹²⁾の 7.2) SBT 法に従い、7 領域 (*flaA*, *pilE*, *asd*, *mip*, *mompS*, *proA*, *neuA*) を対象としたコンベンショナル PCR を実施した。

PCR 反応液は、20 μ L 中に 1 \times Ex Taq Buffer (Mg²⁺plus) , 0.2 mM dNTP, 0.2 μ M Mix Primer, 0.5 U TAKARA Ex Taq HS (タカラバイオ株)、鋳型 DNA 1 μ L を含むように調整した。

PCR 装置は、T100 (バイオラッド株) を使用し、95°C、5 分間の後、94°C 30 秒、55°C 30 秒、72°C 50 秒を 35 サイクルとし、72°C、10 分間で伸長反応を行った。PCR 増幅産物は 2.5% アガロースゲルを使用して電気泳動を行い、遺伝子増幅を確認した。

(3) Cycle Sequence

QIAquick PCR Purification Kit (QIAGEN K.K.) を用いて増幅産物を精製し、Cycle Sequence 反応の鋳型とした。プライマーは M13 Forward primer および M13 Reverse primer を終濃度 5 μ M となるように調整し、BigDyeTM Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Thermo Fisher Scientific K.K.) を用いて実施した。

(4) SBT 解析

Cycle Sequence 反応後、BigDyeTM XTerminator Purification Kit (Thermo Fisher Scientific K.K.) で精製したものを、Applied Biosystems 3500 (Thermo Fisher Scientific K.K.) を用いて塩基配列を決定した。得られた配列データは、MEGA 11 を用いて塩基配列のアライメントを行い、国立感染症研究所から提供されたデータベースと比較後、7 領域それぞれにアリル番号を付与し、7 領域のアリル番号の組合せから各菌株の Sequence type (以下、ST) を決定した。

(5) Minimum spanning tree 解析

SBT 解析が可能であった 47 株について、病原微生物遺伝子情報システム (BioNumerics v8.1) を用いて Minimum spanning tree (以下、MST) を作成した。参照株として、2008 年～2016 年に国内のレジオネラ症患者から分離された *L. pneumophila* 419 株⁸⁾及び、1996 年～2006 年に国内で分離された浴槽水由来 50 株、冷却塔由来 50 株、土壌等由来 35 株の環境由来 *L. pneumophila* SG1 135 株¹¹⁾を含む全国のデータについて併せて解析を行った。

結果

1 患者報告

愛媛県のレジオネラ患者報告数は、2006 年～2013 年までは毎年 5 例前後で推移していたが、2014 年以降は年間 15 例程度に増加し、2022 年は過去最多の 21 例となった (図 1)。

2006 年～2022 年までに報告された 184 例のうち、感染経路が確定であったのは 2 例 (1.1%)、推定が 65

例 (35.3%), 残り 117 例 (63.6%) が感染経路不明と報告されていた。感染経路を確定していた 2 例の感染経路はいずれも水系感染であり, 行動調査により感染源を確定したものであった。

2 分子疫学解析

当所で保存している *L. pneumophila* のうち, 環境由来 61 株及び臨床由来 2 株の計 63 株について, ハウスキーピング遺伝子である 7 遺伝子領域 (*flaA*, *pilE*, *asd*, *mip*, *mompS*, *proA*, *neuA*) を対象にした SBT 解析を実施した結果を表 1 に示した。63 株中, ST の決定が可能であったのは, 入浴施設由来 42 株, 冷却塔由来 1 株, 臨床由来 2 株の計 45 株であり, 17 種類の ST が検出された。ST の内訳は, ST1 の 14 株 (31.1%) が全て SG1, ST1994 の 5 株 (11.1%) が SG6, ST153 の 3 株

(6.7%) が SG6, ST392 の 3 株 (6.7%) が SG5, ST48, 512, 788, 979, 1151 の各 2 株 (4.4%) が SG1, ST1633, 1885 の各 2 株 (4.4%) が SG6 と続き, ST と SG との間に関連性が認められた。

また, ST が決定できなかった 18 株のうち, 7 遺伝子領域のいずれかが増幅されなかった ND 株は 14 株で, 7 遺伝子領域全てにアレル番号が付与されたものの既知の ST に該当しない, あるいは 7 遺伝子領域のいずれかの塩基配列がデータベースに該当しないなど, 新規 ST と判断した UT 株は 4 株であった。

菌株の由来別に ST を比較すると, 最も株数の多かった ST1 が 7 施設の入浴施設から分離されたほか, ST 979, 1151, 1633, 1885, 1994 についてはそれぞれ 2 施設から分離された (表 1)。

SBT 解析で 7 遺伝子領域のアレルが確定した 47 株について, 参照株 554 株を加えて病原微生物遺伝子情報系統解析システム (BioNumerics) を用いて MST 解析を行った (図 2)。その結果, 冷却塔及び入浴施設由来グループ, 入浴施設由来グループ, 土壌由来グループの 3 グループに大別され, 臨床由来株は全てのグループに分布した。県内入浴施設由来 44 株は, 27 株 (61.4%) が入浴施設由来グループに, 2 株 (4.5%) が土壌由来グループに, 15 株 (34.1%) が冷却塔及び入浴施設グループに, 冷却塔由来 1 株は冷却塔グループに属した。また, 今回解析に用いた患者由来株 2 株

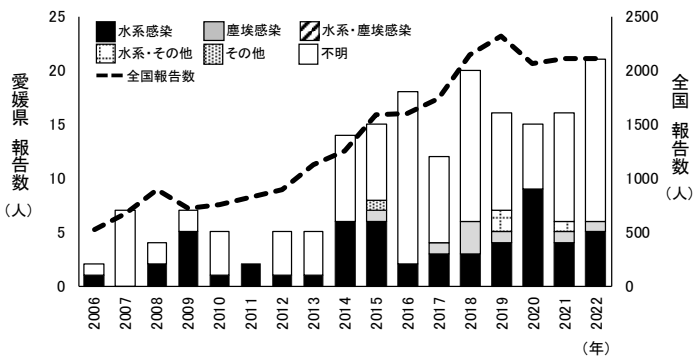


図1 レジオネラ症患者の発生推移

表 1 *L. pneumophila* 分離株の Sequence typing 別の血清群と菌株由来

ST ¹⁾	<i>Legionella pneumophila</i>																	計				
	SG			由来																		
	SG1	SG5	SG6	入浴施設															冷却塔	患者		
			A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	その他					
1	14				2						4		4	1			1	2		14		
36	1																		1	1		
48	2							2												2		
68			1																1	1		
129	1														1					1		
153			3								3									3		
260	1																		1	1		
392		3							3											3		
512	2																		1	2		
788	2							2												2		
979	2									1									1	2		
980	1								1											1		
1032		1					1													1		
1151	2								1										1	2		
1633			2		1		1												1	2		
1885			2						1										1	2		
1994			5									4							1	5		
UT ²⁾	3	1					1			1									2	4		
ND ³⁾	7	7		4	3					1	1		1	2	1	1				14		
計	38	12	13	4	2	4	2	3	5	3	7	4	8	2	2	2	2	2	10	1	2	63

1) Sequence Type 2) Untypable 3) Not detected

表2 施設別 *L. pneumophila* 分離株の解析結果

No.	施設	菌株番号	分離年月	由来 ¹⁾	SG ²⁾	ST ³⁾	アリル番号						
							<i>flaA</i>	<i>pilE</i>	<i>asd</i>	<i>mip</i>	<i>mompS</i>	<i>proA</i>	<i>neuA</i>
1	A	H21E368	2009/12	Bw	1	ND	-	14	16	16	15	13	2
2	A	H22E041	2010/3	Bw	1	ND	-	14	16	16	15	13	2
3	A	H22E359	2010/12	Bw	1	ND	-	14	16	16	15	13	2
4	A	H22E360	2010/12	Bs	1	ND	-	14	16	16	15	13	2
5	B	R01E106	2019/9	Bw	1	1	1	4	3	1	1	1	1
6	B	R02E123	2020/9	Bw	1	1	1	4	3	1	1	1	1
7	C	H21E379	2009/12	Bw	6	1633	2	10	19	28	19	4	6
8	C	H22E026	2010/2	Bw	5	ND	23	6	17	28	14	8	-
9	C	H22E071	2010/5	Bs	5	ND	3	13	1	28	14	9	-
10	C	H22E361	2010/12	Bw	5	ND	6	10	17	6	48	14	-
11	D	H20E220	2008/10	Bb	5	1032	3	13	1	6	14	9	38
12	D	H23E023	2011/2	Bb	5	UT	8	6	17	6	48	15	40
13	E	H21E350	2009/12	Bw	1	788	2	6	17	14	12	8	11
14	E	H21E351	2009/12	Bb	1	788	2	6	17	14	12	8	11
15	E	R04E075	2011/12	Bb	6	1633	2	10	19	28	19	4	6
16	F	H20E231	2008/11	Bb	5	392	3	13	1	6	14	9	11
17	F	H21E354	2009/12	Bb	1	48	5	2	22	27	6	10	12
18	F	H21E347	2009/12	Bb	5	392	3	13	1	6	14	9	11
19	F	H23E001	2011/1	Bb	1	48	5	2	22	27	6	10	12
20	F	H23E003	2011/1	Bb	5	392	3	13	1	6	14	9	11
21	G	H20E245	2008/11	Bw	1	1151	7	43	31	3	48	15	40
22	G	H21E336	2009/12	Bb	6	1885	6	10	14	28	2	14	3
23	G	R04E111	2012/12	Bb	1	980	6	10	17	28	9	14	3
24	H	H22E005	2010/1	Bw	1	1	1	4	3	1	1	1	1
25	H	H22E020	2010/2	Bw	1	1	1	4	3	1	1	1	1
26	H	H22E363	2010/12	Bw	1	UT	10	22	7	3	16	18	UT
27	H	H22E366	2010/12	Bb	5	ND	3	6	1	28	14	9	-
28	H	R04E125	2013/12	Bw	1	979	10	22	7	3	16	18	6
29	H	R04E130	2013/12	Bw	1	1	1	4	3	1	1	1	1
30	H	R04E133	2013/12	Bs	1	1	1	4	3	1	1	1	1
31	I	H18E132	2006/10	Bs	6	153	2	10	3	28	9	14	3
32	I	H18E200	2006/12	Bt	6	153	2	10	3	28	9	14	3
33	I	H19E011	2007/1	Bw	5	ND	8	6	34	9	53	8	-
34	I	H19E105	2007/5	Bt	6	153	3	10	3	28	9	14	3
35	J	H20E275	2008/12	Bb	6	1994	3	6	1	6	8	11	9
36	J	H21E342	2009/12	Bb	1	1	1	4	3	1	1	1	1
37	J	H21E341	2009/12	Bb	6	1994	3	6	1	6	8	11	9
38	J	H22E372	2010/12	Bb	1	1	1	4	3	1	1	1	1
39	J	H22E371	2010/12	Bb	6	1994	3	6	1	6	8	11	9
40	J	H23E014	2011/1	Bb	1	1	1	4	3	1	1	1	1
41	J	R04E072	2011/12	Bw	6	1994	3	6	1	6	8	11	9
42	J	R04E076	2012/1	Bb	1	1	1	4	3	1	1	1	1
43	K	H20E228	2008/11	Bb	1	ND	-	14	16	16	15	13	2
44	K	H20E287	2008/12	Bs	1	1	1	4	3	1	1	1	1
45	L	H22E113	2010/7	Bw	1	ND	2	10	17	14	21	14	-
46	L	H22E115	2010/7	Bw	5	ND	2	10	3	6	9	4	-
47	M	H22E230	2010/9	Bw	1	129	6	6	15	28	4	14	11
48	M	H22E227	2010/9	Bw	5	ND	2	10	3	28	9	4	-
49	N	H23E028	2011/2	Bs	1	1	1	4	3	1	1	1	1
50	N	R04E091	2012/12	Bs	1	ND	3	53	1	28	14	9	-
51		H20E084	2008/6	Bw	1	512	3	8	19	28	19	4	9
52		H20E234	2008/11	Bw	1	1151	7	43	31	3	48	15	40
53		H20E241	2008/11	Bs	6	1994	3	6	1	6	8	11	9
54		H21E040	2009/3	Bw	1	1	1	4	3	1	1	1	1
55		R04E098	2012/12	Bw	1	UT	7	12	31	3	48	15	40
56		R04E105	2012/12	Bw	1	UT	2	10	19	28	UT	4	9
57		R04E117	2013/8	Bw	6	1885	6	10	14	28	2	14	3
58		R04E124	2013/12	Bw	1	979	10	22	7	3	16	18	6
59		R04E136	2013/12	Bs	6	68	3	13	1	28	14	9	3
60		R04E144	2013/12	Bw	1	1	1	4	3	1	1	1	1
61		H20E004	2008/1	Ct	1	36	3	4	1	1	14	9	1
62		H20E074	2008/6	Pt	1	512	3	8	19	28	19	4	9
63		R04E231	2022/10	Pt	1	260	12	8	11	23	29	26	2

1) Pt: 患者, B: 入浴施設 (Bw: 浴槽水, Bs: 原水, Bt: 貯湯槽, Bb: 逆洗水), Ct: 冷却塔

2) Sero Group 3) Sequence Type

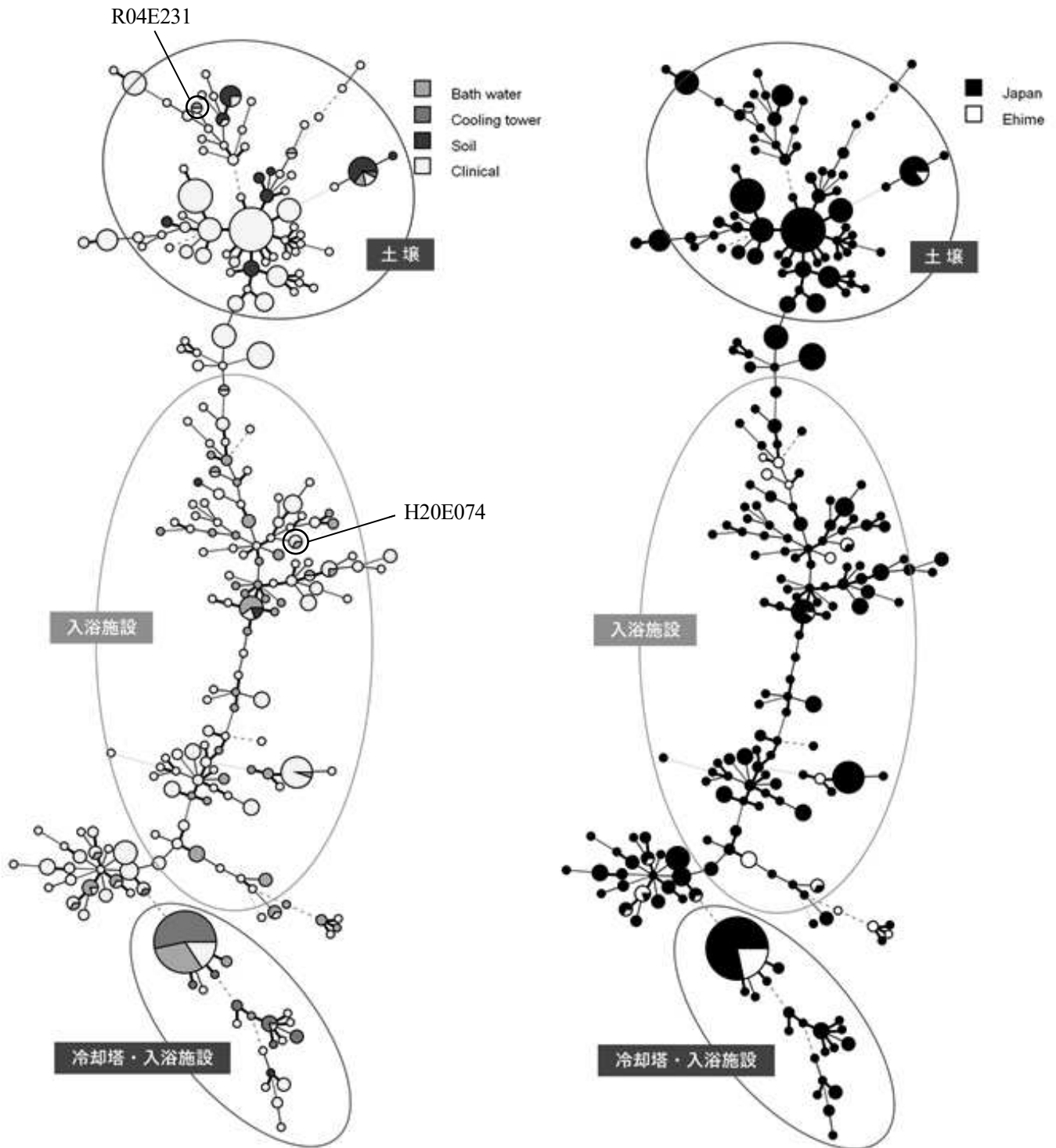


図2 Minimum spanning tree 解析

(H20E074, R04E231) の ST はそれぞれ ST 512 及び ST260 となり, MST 解析から, 入浴施設由来グループ及び土壌等由来グループに分類された。

さらに, 解析した入浴施設由来 61 株のうち, 同一施設から複数検体が得られた 14 施設の分離株について, 施設ごとに解析データを比較した (表 1, 2)。施設 E, H, I, J では, 浴槽, ろ過機逆洗水, 貯湯槽又は原水の

複数地点から同じ ST が検出され, 施設 B, F, H, I, J では, 半年から 1 年以上経過した検査で同じ ST が検出された。また, 施設 A については, 採取場所又は採取時期が異なる 4 株とも *flaA* 遺伝子領域に増幅が確認できず, ST が ND となったが, *flaA* 遺伝子以外の 6 遺伝子領域のアリル番号は共通していた。

考察

愛媛県内のレジオネラ症患者報告数は、2014年から増加傾向となり、2018年以降は年間20人前後で横ばいに推移し、2022年の報告数は過去最多の21人となっている。全国的にも2018年以降は毎年2000人以上が報告されており、愛媛同様高止まりの状態が続いている。2020年以降、国内で新型コロナウイルス感染症が流行したことに伴う行動制限等により、様々な感染症の発生が減少している中においても、レジオネラ症患者の発生が続いていることは注目に値する。

第42回衛生微生物技術協議会のレジオネラレファレンスセンター会議資料¹³⁾によると、全国で2011年～2012年（～35週）に報告された16,841例の患者の推定感染経路は、水系感染が5,465例（32.5%）、塵埃感染が953例（5.7%）であり、多くは感染経路不明となっている。愛媛県においても全国とほぼ同様に、2006年～2022年に報告された患者184名の感染経路は、水系感染が55例（29.8%）、塵埃感染が8例（4.3%）、水系及び塵埃感染が3例（1.6%）、その他が1例（0.5%）と確定あるいは推定され、感染経路が不明であったものは117例（63.6%）であった（図1）。レジオネラ属菌は環境中に広く生息し、アメーバに寄生して増殖することから、腐葉土、カーエアコン、修景水等の様々な水環境が感染源、感染経路となった事例が報告^{3-8,14)}されている。以上のことから県内のレジオネラ属菌の感染源、感染経路の解明が、レジオネラ症に対する感染予防策を講じる上で最も重要な課題であると考えられる。

感染源の特定には、レジオネラ症患者由来株及び環境由来株について分子疫学解析を実施し、遺伝子型の一致を確認することが必須となる。その方法として、PFGE法、SBT法、Multiple-locus variable number tandem repeat analysis (MLVA) 法等が挙げられるが、*L. pneumophila* において、SBT法が国際的な遺伝子型別法として確立されていることから、今回の検討においてもSBT法を採用することとした。

SBT法とは、ハウスキーピング遺伝子である特定の7遺伝子領域のDNA断片をPCR法で増幅後、Sequence反応を行うことで塩基配列を解読し、遺伝子領域ごとに既知のデータベースとの照合により付与された7つのアレル番号の組み合わせからSTを決定する分子疫学解析法である。当該法による解析データは数字によるデジタル化が可能であり、再現性と比較性に優れるという特徴をもつ¹⁵⁾。

今回、当所で保存している *L. pneumophila* の環境由

来61株及び臨床由来2株の計63株について、SBT解析を実施した。その結果、検出された17種類のSTは、いずれも複数のSGに属することはなく、単一のSGでのみ認められた（表1）。419株の臨床分離株でST解析を行ったMaekawaらの報告¹⁰⁾でも、同一STが複数のSGから検出されたのは187種中4種（ST 68, 114, 1136, 1427）のみであり、SGごとに優位なSTが存在する可能性が示唆された。

一方、SBT法の識別能力については、最も株数の多かったST1が7つの入浴施設から分離されたほか、ST 979, 1151, 1633, 1885, 1994の5種類がそれぞれ2施設から分離されていることから（表1）、SBT解析の結果のみによって感染源の確定を行うことは困難であり、感染経路を絞り込むためのツールの1つとして活用し、調査結果は慎重に解釈すべきと考えられた。

なお、7遺伝子領域のいずれかのアリル番号が付与できずNDとなった14株のうち、*neuA*の増幅が得られなかった株が9株、*flaA*の増幅が得られなかった株が5株であった。増幅が得られなかった株についてはプライマーが認識しない変異株の可能性があるが、*neuA*についてはSG1以外の一部の血清群で増幅しない株の存在が明らかとなっており¹⁶⁾、今後、改良プライマーで精査する予定である。

SBT解析で7遺伝子領域のアリルが確定した47株について、病原微生物遺伝子情報システム解析システム (BioNumerics) を用いてMST解析を行った。その結果、県内の入浴施設由来株は、冷却水及び入浴施設由来グループ、入浴施設由来グループ、土壌由来グループの3グループに大別された。93.7%の株が入浴施設由来グループと冷却水及び入浴施設由来グループに分類されたものの、2株（4.5%）が土壌由来グループに分類されている。これは、レジオネラ属菌は環境中（特に環境土壌中）の常在菌の一種であり、粉塵あるいは利用者を介して入浴施設に持ち込まれ、温暖な環境に適した株が入浴施設に定着している可能性が示唆された。このことから、県内の入浴施設や土壌から分離された環境由来株についてSBT解析を行い、STデータを解析システムにあらかじめ登録しデータベース化しておくことで、レジオネラ症患者発生時に患者分離株のSBT解析を行い、データベースに追加してMST解析を実施すれば、感染経路の推定もしくは特定が可能になると考えられる。

今回解析に用いた臨床由来2株（当所菌株番号：H20E074, R04E231）のSTは、それぞれST 512及び

ST260 となり, MST 解析で入浴施設由来グループ及び土壌由来グループに属することが明らかになったことから, 感染経路が推察された。

さらに, 同一施設で採取時期や採取場所が異なる検体が得られた 14 施設について, 分離株の ST を比較した結果 (表 2), 14 施設中 5 施設 (B, F, H, I, J) から, 1 年以上経過後に同じ ST の *L. pneumophila* が再び検出された。調査当時の対応としては, レジオネラ属菌が検出された場合には洗浄等の対策を施し, 再検査により陰性を確認したうえで営業を再開している。しかし, 今回の SBT 解析において一定期間経過後に同一 ST が再び検出されたということは, 循環システムのバイオフィーム中に菌が残るなどの洗浄・管理不備を指摘する材料となると考えられる。また, 複数の採取場所で同じ ST が検出された 4 施設 (E, H, I, J) については, 施設 E, J は浴槽水及びろ過機逆洗水, 施設 H は原水及び浴槽水, 施設 I は原水及び貯湯槽から同一 ST 株が分離され, 施設内の汚染の拡がりや, 重点的な洗浄ポイントを検討する材料になると考えられた。

入浴施設については, 一度レジオネラ属菌が検出されると, 同じ ST のレジオネラ属菌が優位株となって定着する可能性が高いということが示唆された。このことは, 再発防止に向けて徹底した衛生管理を継続することの重要性を裏付ける結果となった。

今回の検討により, 愛媛県内で分離されたレジオネラ属菌を用いて分子疫学解析である SBT 解析を実施し, データの蓄積とデータベースを構築することで, 今後のレジオネラ症患者発生時の早急な感染経路の推定あるいは徹底した感染予防対策を講じることが可能となり, レジオネラ症発生リスクの低減に寄与する可能性が示唆された。

まとめ

- 1 愛媛県内で分離された環境由来 *L. pneumophila* 61 株及び臨床由来 *L. pneumophila* 2 株の計 63 株について, SBT 解析を実施した。
- 2 SBT 法で解析可能であった 47 株について, MST 解析を行い, 全国の臨床由来株及び環境由来株のデータと比較した結果, 冷却塔及び入浴施設由来, 入浴施設由来, 土壌由来の 3 グループに分類可能となった。
- 3 当該法によるデータベースを蓄積し, レジオネラ

症患者発生時において臨床分離株の解析結果を既知のデータベースと照合することで, 感染経路特定及び原因究明調査に極めて有用な知見が得られると考えられた。

文献

- 1) 国立感染症研究所 : 発生動向調査年別報告一覧「レジオネラ症」,
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/ydata/11529-report-ja2021-20.html>
- 2) 国立感染症研究所 : 「レジオネラ症とは」2014年6月25日改訂,
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/kansennohanashi/530-legionella.html>
- 3) 岡崎ら : 感染症学雑誌. (72) 10, 1076 - 1079 (1998)
- 4) 嶋田ら : IASR. 26 (8), 221 - 222 (2005)
- 5) Pinar A. *et al.* : Infect Control Hosp Epidemiol. 23(3), 145 - 147 (2022)
- 6) Natalia V. *et al.* : Emerg Infect Dis. 23 (11) ,1880 - 1882 (2017)
- 7) Euser SM. *et al.* : Lancet.382 (9910), 2114 (2013)
- 8) Euser SM. *et al.* : J Med Case Reports 8, 31 (2014)
- 9) Kuroki T. *et al.* : Jpn J Infect Dis.62, 201 - 205 (2009)
- 10) Amemura-Maekawa J. *et al.* : Appl Environ Microbiol. 84 (18), 1- 9 (2018)
- 11) Amemura-Maekawa J. *et al.* : Appl Environ Microbiol. 78(12), 4263 - 4270 (2012)
- 12) 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年9月1日改訂,
<https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/Legionella20200904.pdf>
- 13) 国立感染症研究所衛生微生物技術協議会第42回研究会 (静岡・オンライン) レファレンスセンター等報告資料,
https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/reference/R4_Legionnaires.pdf
- 14) Thomas E. *et al.* : Infect Control Hosp Epidemiol. 33(2), 185-191 (2012)
- 15) Gaia V. *et al.* : J Clin Microbiol. 43, 2047 - 2052 (2005)
- 16) Mentasti M. *et al.* : Clin Microbiol Infect. 20, 435 -441 (2013)

Molecular epidemiological analysis of *Legionella spp.* strains isolated in Ehime Prefecture, Japan.

Yuka YAGITA, Ayako UJIKE, Yukiko ASANO, Noriko AOKI, Naritoshi BANDO,
Hiroshi TAKIYAMA, Hiroto SHINOMIYA

A total of 184 cases of Legionellosis were reported in Ehime Prefecture during the 17-year period from 2006 to 2022. Of these, there were only 2 cases (1.1%) with confirmed routes of infection, 65 cases (35.3%) with ones, and 117 cases (63.6%) with unknown ones, indicating that the route of infection was not clear in most cases. In this study, in order to establish a molecular epidemiological method useful for identifying the source and route of infection, we conducted a sequence-based typing analysis of seven housekeeping genes (*flaA*, *pilE*, *asd*, *mip*, *mompS*, *proA*, and *neuA*) in a total of 63 *Legionella pneumophila* strains (61 environmental and 2 clinical strains) stored at our institute, and constructed a database using the BioNumerics system for phylogenetic analysis of pathogenic microbial genes. The minimum spanning tree based on the constructed database showed that the environment-derived strains were broadly classified into three groups: the cooling tower and bathing facility-derived group, the bathing facility-derived group, and the soil-derived group, while the clinically-derived strains were distributed in all groups. The present molecular epidemiological analysis method may provide useful information for estimating the source and route of infection.