

図3 浴槽水原液とフィルターろ過水のATP値の割合の頻度

$$\text{ATP 値の割合 (\%)} = \left\{ \frac{\text{ATP 値 (フィルターろ過水)}}{\text{ATP 値 (原液)}} \right\} \times 100$$

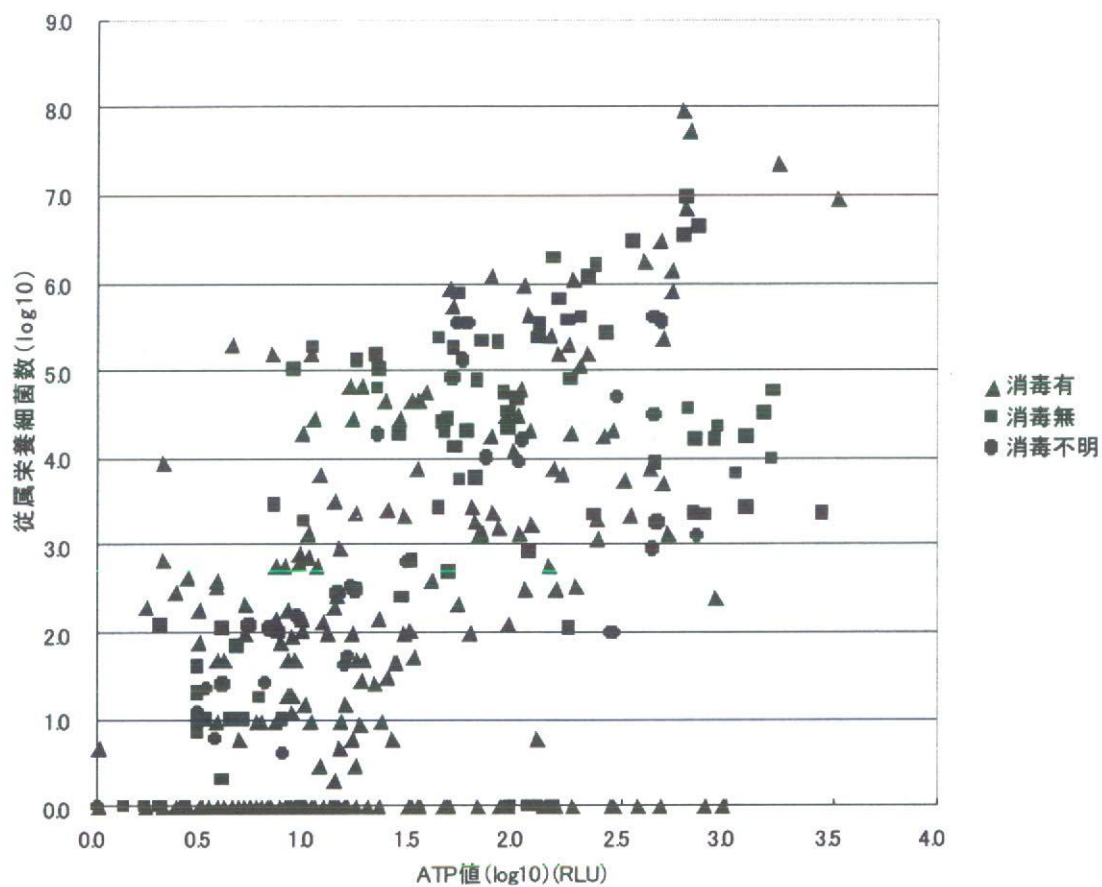


図4 従属栄養細菌数と試料水の ATP 値の相関

全体： $R=0.60$ $y=1.62x+0.08$
 消毒有： $R=0.56$ $y=1.58x-0.15$
 消毒無： $R=0.58$ $y=1.34x+1.19$
 消毒不明： $R=0.72$ $y=1.48x+0.72$

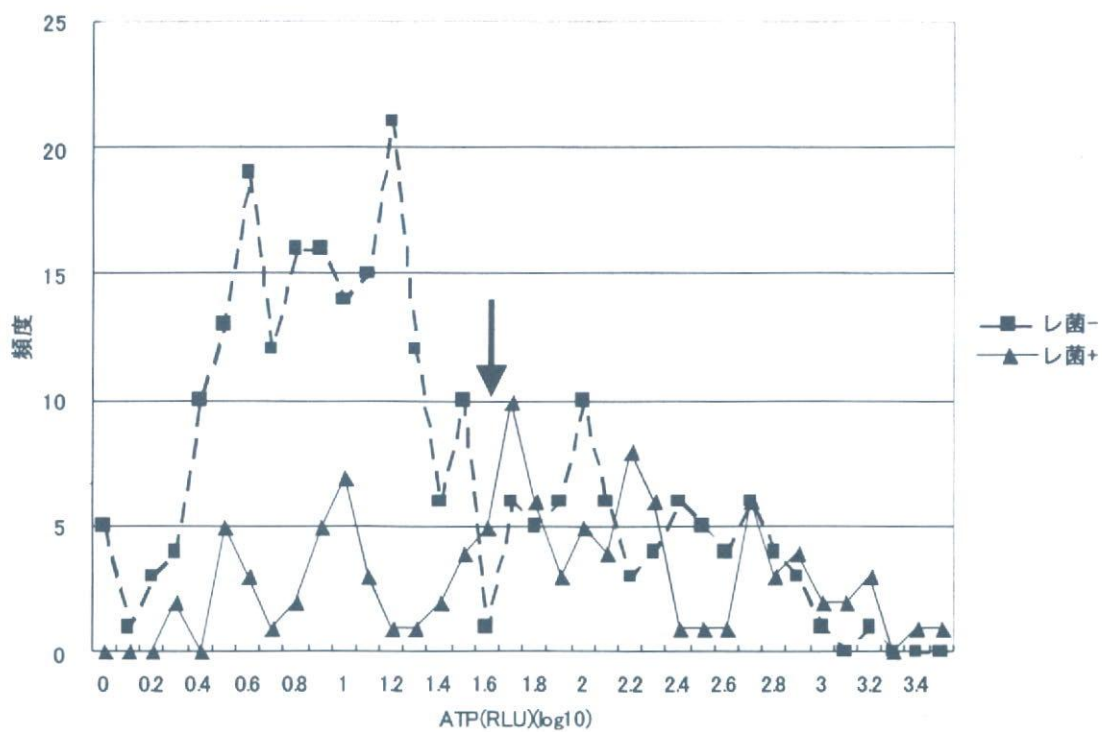


図5 ATP測定値におけるレジオネラ属菌検出・不検出検体数の頻度

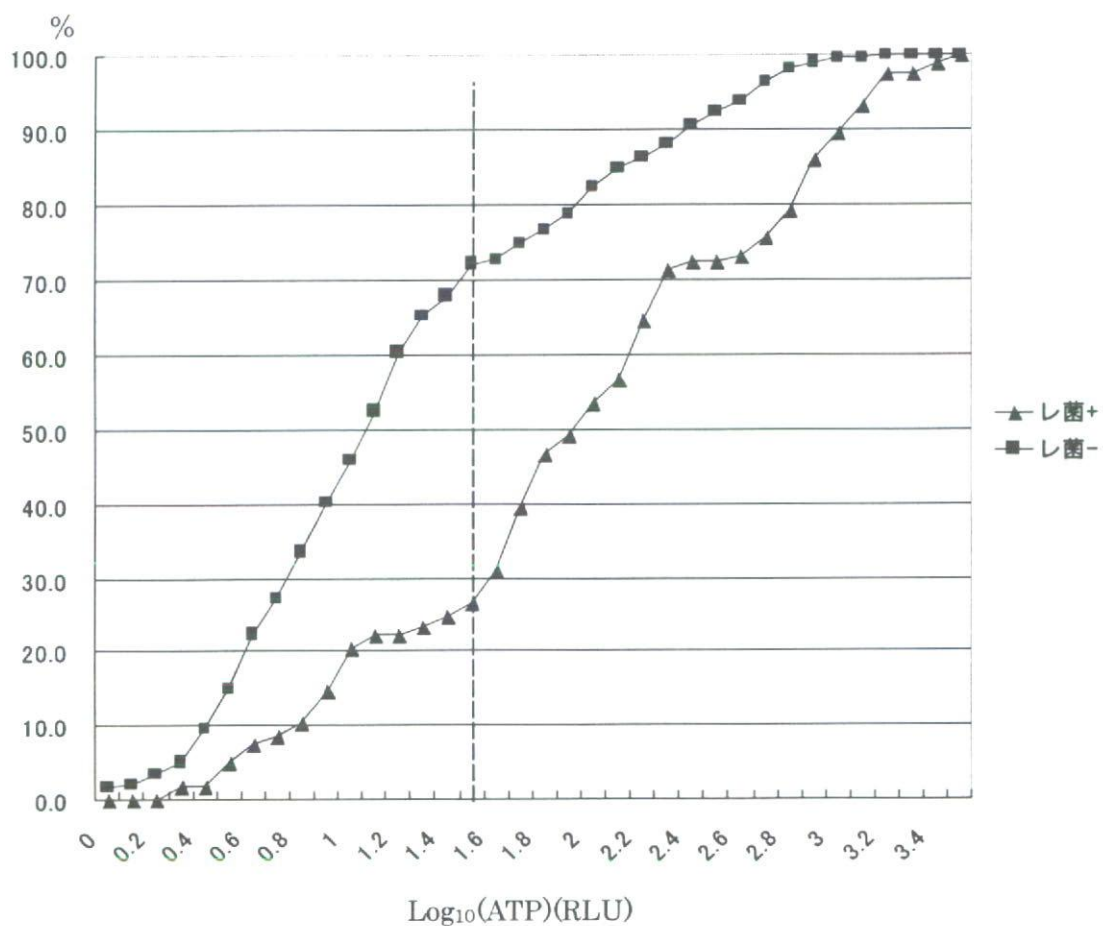


図6 浴槽水における ATP 値の累積度数分布

残留塩素濃度	レジオネラ属菌			検出率 (%)
	検出	不検出	計	
<1.7	36	165	201	18.0
≥1.7	80	62	142	56.3
計	116	227	343	

オッズ比 0.16 (0.1-0.27) 有意差あり

χ^2 検定 $p < 0.01$ ($p = 1.27E \cdot 13$) 有意差あり

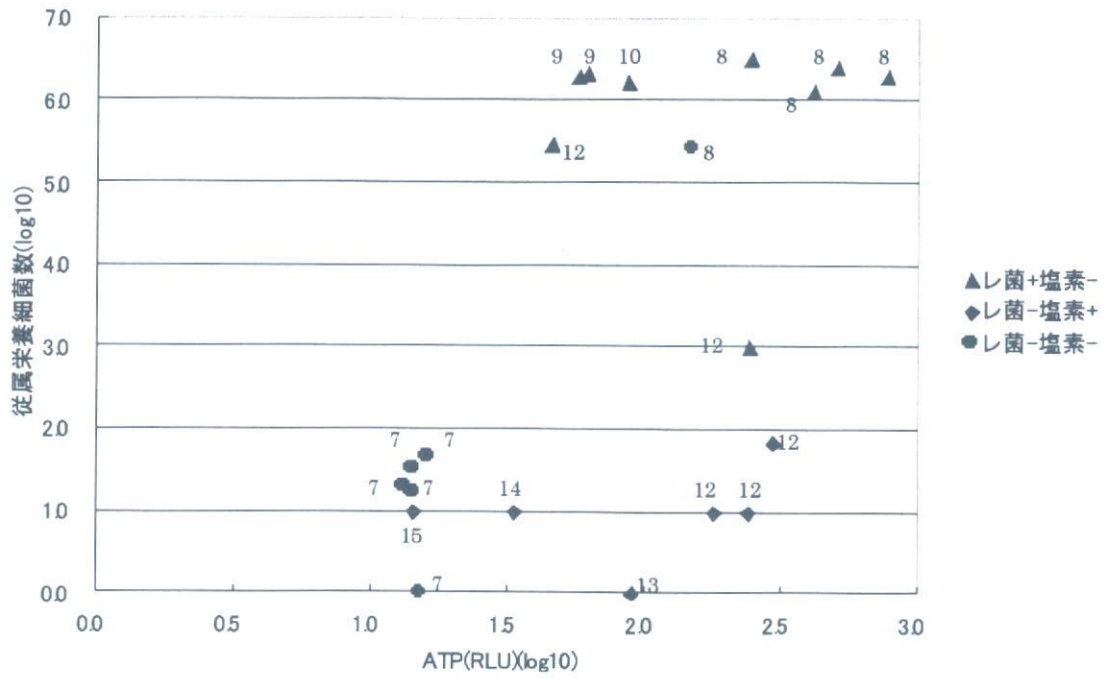


図7 実験1における従属栄養細菌数と ATP 量の分布
 グラフ中の数字：経過日数

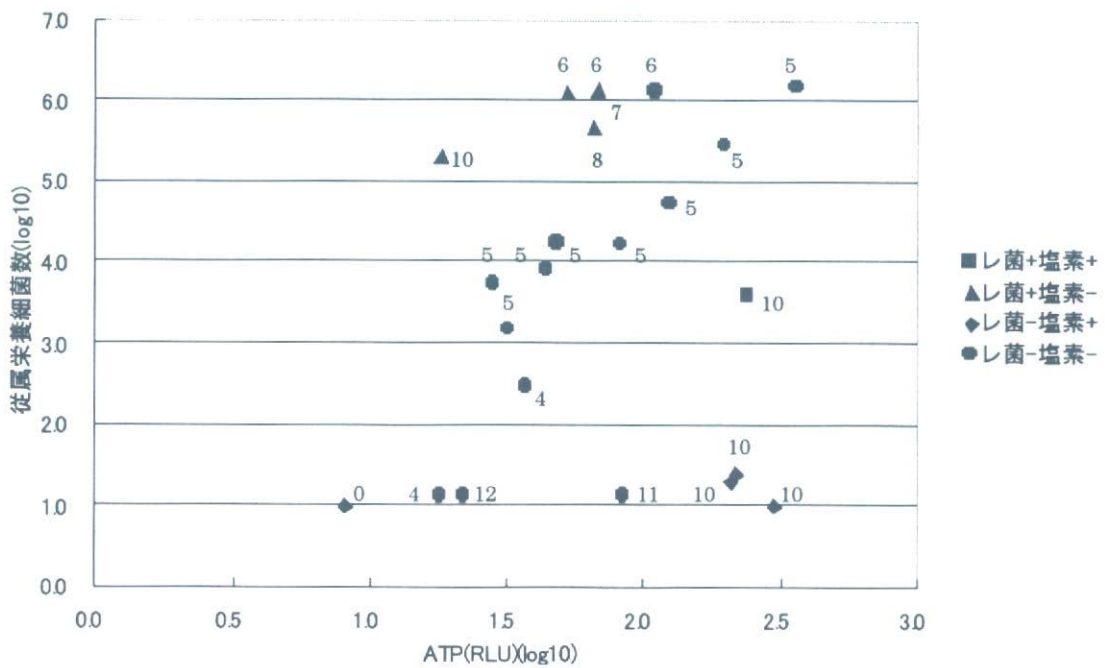


図8 実験2における従属栄養細菌数と ATP 量の分布
 グラフ中の数字：経過日数

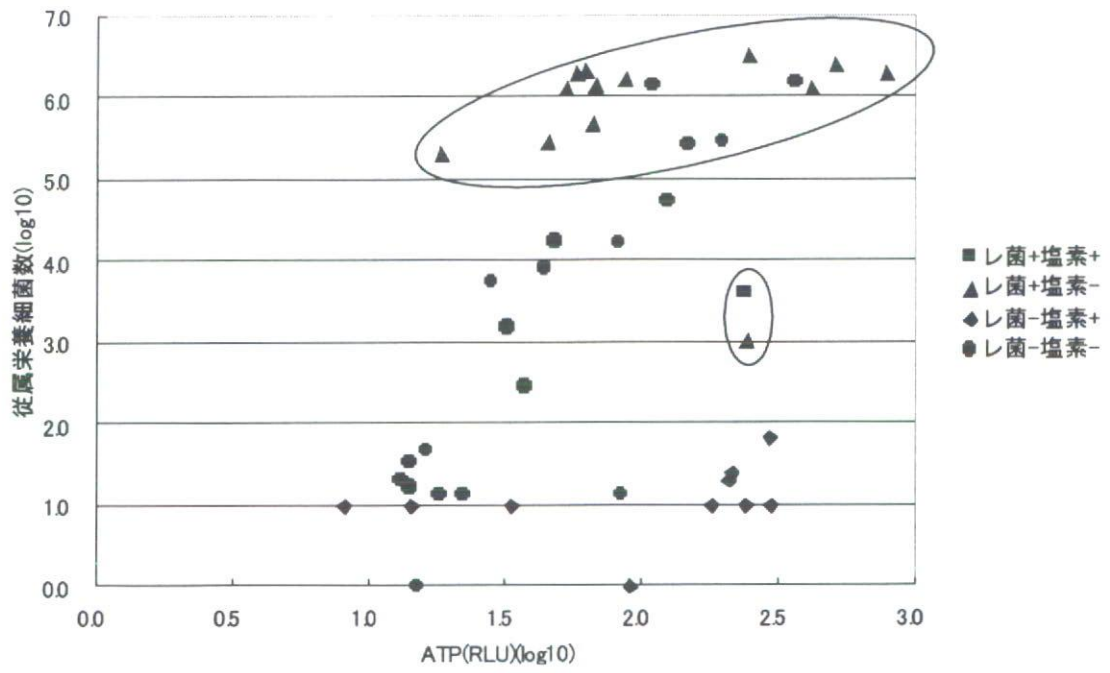


図9 実験1および2における従属栄養細菌数とATP量の分布

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）

迅速・簡便な検査によるレジオネラ対策に係る公衆浴場等の
衛生管理手法に関する研究

Legionella pneumophila の遺伝子型およびモノクローナル抗体型の解析
-由来による違いについて-

研究代表者 倉 文明 国立感染症研究所 細菌第一部

研究分担者 前川純子 国立感染症研究所 細菌第一部

研究協力者 鈴木敦子 東京都予防医学協会

研究協力者 市瀬正之 東京都予防医学協会

研究要旨： 日本各地から分離された *Legionella pneumophila* 血清群 1 の環境分離株（浴槽水分離株 30 株、冷却塔水分離株 34 株）について遺伝子型別（SBT）を行った。従来の 6 つの遺伝子に *neuA* 遺伝子が追加され、7 つの遺伝子により SBT を行うことになったため、以前に型別を行った浴槽水分離株 10 株、冷却塔水分離株 14 株について *neuA* 遺伝子の型別を追加した。昨年度より、レジオネラレファレンスセンターにおいて *L. pneumophila* 臨床分離株の収集を行っており、収集した 20 株を含む 61 株の臨床分離株について型別を行ったが、今年度は新たに収集された 15 株および従前に収集された 10 株について SBT を行った。血清群 1 である菌株についてはモノクローナル抗体（MAb）型別を行った。MAb 型別の結果、血清群 1 の臨床分離株 69 株は 7 種類に型別された。浴槽水分離株 40 株は 9 種類、冷却塔水分離株 48 株は、4 種類に型別された。遺伝子型別の結果は、浴槽水分離株 40 株は 29 種類に型別され、多様であった。冷却塔水分離株 48 株は 6 種類に型別され、多様性に乏しく、37 株（77%）が ST1 であった。昨年度解析を行なった菌株を含め、臨床分離株 86 株は 53 種類に型別された。あわせて 174 株が、82 種類に型別され、その疫学的有用性が確認できた。臨床分離株、浴槽水分離株、冷却塔水分離株はそれぞれ、遺伝子型やモノクローナル抗体型の分布や頻度が異なっていた。さらに得られた遺伝子型について minimum spanning tree 法による解析を行った。冷却塔水分離株は、ST1 以外の株も 1 株を除いて、ST1 にやや近縁で、また互いに似ており、1 つの complex を形成していた。それ以外の大きな complex はすべて浴槽水分離株と臨床分離株を両方含んでいた。

A. 研究目的

わが国においてレジオネラ症の主要な感染源は温泉などの入浴施設であると推測されている。レジオネラ症の起因菌として最も頻度の高い *L. pneumophila* 分離株について、遺伝子型別を行なった。また、そのうちの血清群 1 についてはモノクローナル抗体 (MAb) 型別も行った。以前も同様の研究を行い、臨床分離株が多様な型別を示し、本法が疫学的に有用であること、また、環境分離株のうち、浴槽水分離株が多様な型別を示すのに対し、冷却塔水が特定の型が多いこと等を明らかにしている¹⁾。今回は、遺伝子型別に用いる遺伝子座数を増やし、その遺伝子型別能の向上をはかるとともに、解析する株数を増やし、その結果の信頼性を高めることを目的とする。

B. 研究方法

わが国における *L. pneumophila* 臨床分離株 25 株、および日本各地から分離された臨床分離株とは無関係な *L. pneumophila* 血清群 1 の環境分離株 64 株 (浴槽水分離株 30 株、冷却塔水分離株 34 株) を EWGLI (European Working Group for *Legionella* Infections) の方法 (<http://www.ewgli.org/>) に従って、*flaA*、*pilE*、*asd*、*mip*、*mompS*、*proA*、*neuA* 遺伝子の一部の領域の塩基配列に基づく型別 (SBT) を行い、遺伝子型を決定した²⁾。2007 年 10 月に従来の 6 つの遺伝子²⁾に加え、*neuA* 遺伝子が追加され、7 つの遺伝子により SBT を行うことになった³⁾。

flaA は鞭毛(flagellin)タンパク質、*pilE* は IV 型線毛(type IV pilin)タンパク質、*asd* はスレオニン生合成系酵素であるアスパラギン酸セミアルデヒドデヒドロゲナーゼ(*aspartate-b-semialdehyde dehydrogenase*)、*mip* は宿主マクロファージへの感染に寄与する(*macrophage infectivity potentiator*) タンパク質、*mompS* は主要外膜タンパク質(*major outer membrane protein*)、*proA* は亜鉛メタロプロテアーゼ(*zinc metalloprotease*)、*neuA* は N-アシルノイラミン酸シチジルトランスフェラーゼ (*N-acylneuraminate cytidyltransferase*) をそれぞれコードする遺伝子である。7 遺伝子の遺伝子型が決まった分離株を EWGLI のデータベースに登録すると、新しい遺伝子型の組み合わせについては ST (Sequence Type) ナンバーが付与される。

以前に型別を行った浴槽水分離株 10 株、冷却塔水分離株 14 株¹⁾についても *neuA* 遺伝子の型別を追加した。その結果、浴槽水分離株 40 株、冷却塔水 48 株について解析を行なったことになる。浴槽水分離株については、温泉由来の株が 13 株、家庭用循環風呂が 8 株で、残りは公衆浴場等の温泉ではない浴槽水由来である。今回型別を行なった株はすべて独立の事例に由来するものである。今回遺伝子型が確定した環境分離株 88 株および臨床分離株 25 株、さらに昨年報告した臨床分離株 61 株⁴⁾もあわせて、遺伝子型別によるそれらの菌株間の類縁関係を BioNumerics (Applied Maths) を用いて

minimum spanning tree 法により解析した。

血清群はデンカ生研のレジオネラ免疫血清 (1-15) により決定した。分離株の血清群の内訳を表 1 に示した。環境分離株については、血清群 1 の株について解析をおこない、臨床分離株は入手したものを血清群によらず、すべて解析した。臨床分離株については昨年度および今年度解析したものを合わせて、患者の男女比は男性が 88%、年齢分布は 0-81 歳で、平均年齢は 58.9 歳であった。

また、血清群 1 の株については 6 種の MAb による型別⁵⁾をドレスデン工科大学のユーゲン・ヘルビツ博士との共同研究として行った。本型別により血清群 1 の菌は 9 種類のサブグループに分けられる (図 1)。

C. 研究結果

SBT により臨床・環境分離株計 174 株は 82 種類に型別された (表 2)。環境分離株 88 株は 34 種類に型別された。うち浴槽水分離株 40 株は 29 種類に型別され、多様であった。最も多かったのは ST1 が 6 株で、次いで ST599 が 3 株だったが、温泉由来株はその中になかった。浴槽水由来株全体で、他に 2 株存在した ST が 4 種類あった。冷却塔水分離株 48 株は 6 種類に型別され、多様性に乏しく、37 株 (77.1%) が ST1 であった。浴槽水分離株と冷却塔水分離株で共通に見られた型は ST1 だけであった。また、臨床分離株 86 株は 53 種類に型別された。ST1 が 7 株と最も多く、次いで ST306 が 6 株、

ST120 と ST138 が各 5 株で、複数株存在した ST は他に 10 種類あった。ST1 は臨床分離株、冷却塔水分離株、浴槽水分離株のすべてから検出され、ST92、ST122、ST131、ST138 は、臨床分離株と浴槽水分離株から共通して検出されたが、ST138 以外の臨床分離株の感染源はすべて不明である。また、PFGE (パルスフィールドゲル電気泳動) 解析により、患者の入浴した浴槽水から臨床分離株と同じ遺伝子型の株が分離された例 (SBT 解析は行なわれていないが、PFGE の方が SBT より遺伝子型別の分解能は高い) が 14 例 (ST で 11 種類) があった。今回検査された浴槽水分離株からは、それらの ST のうち ST138 のみが見いだされた。

分離株間の遺伝子型による類縁関係を minimum spanning tree 法により解析した。その結果、冷却塔水分離株は、ST1 以外の株も 1 株を除いて、ST1 に近縁で、また互いに似ており、1 つの complex を形成していた (図 2)。それ以外の比較的大きな complex はすべて浴槽水分離株と臨床分離株を両方含んでいた。また、現時点で国外でも分離報告のある ST は 18 種類 (22%) だけだったが、国外報告例のある ST は散在して存在し、国外でも見られる型について遺伝型の偏り等はなかった (図 2A)。

血清群 1 の臨床分離株 69 株、および環境分離株 88 株、計 157 株について MAb 型別を行った (表 3)。環境分離株と臨床分離株で MAb 型の頻度に偏りがあった。浴槽水分離株は 9 種類すべての MAb 型

に分かれ、最も多かったのは Bellingham (42.5%)だったが、冷却塔分離株は4つの型のみで Oxford が 72.9%を占めた。臨床分離株は7つの MAb 型に分かれ、最も多かったのは Benidorm (44.9%)だった。

病原性に関連すると考えられている MAb 3/1⁹⁾に着目すると、臨床分離株は 79.7%が陽性であったのに対し、浴槽水分離株の陽性率は 22.5%で、冷却塔水由来株の陽性株は1株のみ (2.1%) であった。

2つの型別法を組み合わせると 174 株は 92 種類に型別された。環境分離株 88 株は 38 種類に型別された。うち浴槽水分離株 40 株は 31 種類に型別され、冷却塔水分離株 48 株は 9 種類に型別された。臨床分離株 86 株は 57 種類に型別された。調べた環境分離株と臨床分離株で共通な型は 4 種類であった。

D. 考察

以前に型別を行った浴槽水分離株 10 株はすべて温泉由来であり、冷却塔水分離株に比べ多様な遺伝型を示したのは、水質の多様性に関係しているのではないかと考えていたが、今回水道水等を用いていると考えられる公衆浴場等の浴槽水分離株でも同様の傾向が見られることが明らかになったので、冷却塔水との水温の違い、あるいは人が入浴することによる有機物等の持ち込みが冷却塔水分離株と浴槽水分離株との遺伝的差異に影響するのではないかと考えられた。

以前型別を行った 14 株の冷却塔水分離株はすべて ST1 (*neuA* について今回追

加した結果確定した) だったが、今回 48 株の冷却塔水分離株を調べたところ、11 株 (22.9%) は ST1 以外の型であった。

しかし、1 株を除いて、それらの遺伝型は互いに似通っていて 1 つの complex を形成しており、冷却塔の環境は日本国内で比較的似通っていて、その環境に適応的な遺伝子型のものが広く分布しているのであろうという以前の考察は支持された。臨床分離株のうち 7 株(8.1%)のみが冷却塔水分離株に多く見られる ST1 であったということはわが国のレジオネラ症の感染源の多くが入浴施設であると考えられていることと矛盾しない。また、ST1 および ST120 の患者由来株の感染源はすべて不明であったが、ST306 (6 例) のうちの 5 例、ST138 の 5 例すべてが、感染源が浴槽水と確定あるいは推定されていて、患者分離株の ST と感染源には関連があることが推測された。

遺伝子型、MAb 型ともに、環境分離株と臨床分離株との間で、その分布や頻度に乖離が見られた。臨床分離株も本来環境に生息していたはずであることを考えると、環境に生息している *L. pneumophila* の特定の株がレジオネラ症の発生に関与していると考えられる。今後、さらなるデータの蓄積により、入浴施設から分離された菌株を型別することで、より具体的なリスクアセスメントを行なえるようになる可能性を示唆するものである。

E. 結論

わが国のレジオネラ症患者からの *L.*

pneumophila 臨床分離株と、浴槽水、冷却塔水由来の *L. pneumophila* 血清群 1 の環境分離株について SBT 法および MAb 型別法を用いて型別したところ、その疫学的有用性が確認できた。また、遺伝子型、MAb 型ともに、環境分離株と臨床分離株との間で、その分布や頻度に乖離が見られた。環境に生息している *L. pneumophila* の特定の株がレジオネラ症の発生に関与していることが示唆され、冷却塔水より浴槽水由来株が、より関与していると推測された。そのことはわが国のレジオネラ症の感染源の多くが入浴施設であると考えられていることと矛盾しない。

謝辞

今回解析した菌株を分与くださった青木敏也、安形則雄、江口ヒサ子、緒方喜久代、金澤裕司、小山敏枝、辻 英高、土井 均、貫名正文、藪内英子（敬称略）の諸氏に感謝いたします。

F. 参考文献

- 1) 倉 文明、前川純子、常 彬、小林 静史：*Legionella pneumophila* 血清群 1 の遺伝子型およびモノクローナル抗体型の解析。厚生労働科学研究費補助金地域健康危機管理研究事業 「温泉の泉質等に対応した適切な衛生管理手法の開発に関する研究」平成 18 年度 総括・分担研究報告書 pp27-35.
- 2) Gaia, V, Fry, NK, Afshar, B, Lück, PC, Meugnier, H, Etienne, J, Peduzzi, R, and Harrison, TG. 2005. Consensus sequence-based scheme for epidemiological typing of clinical and environmental isolates of *Legionella pneumophila*. J. Clin. Microbiol. 43:2047-52.
- 3) Ratzow S, Gaia V, Helbig JH, Fry NK, Lück PC. 2007. Addition of *neuA*, the gene encoding N-acylneuraminyl transferase, increases the discriminatory ability of the consensus sequence-based scheme for typing *Legionella pneumophila* serogroup 1 strains. J. Clin. Microbiol. 45:1965-8.
- 4) 倉 文明、前川純子：*Legionella pneumophila* 臨床分離株の遺伝子型の解析。厚生労働科学研究費補助金地域健康危機管理研究事業 「迅速・簡便な検査によるレジオネラ対策に係る公衆浴場等の衛生管理手法に関する研究」平成 19 年度 総括・分担研究報告書 pp111-115.
- 5) Helbig JH, Luck PC, Knirel YA, Witzleb W, Zahringer U. 1995. Molecular characterization of a virulence-associated epitope on the lipopolysaccharide of *Legionella pneumophila* serogroup 1. Epidemiol. Infect. 115:71-8.
- 6) Helbig JH, Bernander S, Castellani Pastoris M, Etienne J, Gaia V, Lauwers S, Lindsay D, Luck PC, Marques T, Mentula S, Peeters MF, Pelaz C, Struelens M, Uldum SA, Wewalka G,

Harrison TG.2002. Related Articles, Pan-European study on culture-proven Legionnaires' disease: distribution of *Legionella pneumophila* serogroups and monoclonal subgroups. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 21:710-6.

G. 研究発表

- 1) Junko Amemura-Maekawa, Fumiaki Kura, Bin Chang, Haruo Watanabe, and Jürgen H. Helbig. Sequence based typing and monoclonal antibody typing of *Legionella pneumophila* serogroup 1 clinical and environmental isolates in Japan. 23rd Annual Meeting of the European Working Group for

Legionella infections. Madrid, Spain. May 2008.

- 2) 前川純子、倉 文明、常 彬、市瀬正之、渡辺 治雄 : *Legionella pneumophila* 血清群 1 分離株の遺伝子型別およびモノクローナル抗体型別. 第 82 回日本細菌学会総会. 2009 年 3 月, 名古屋.
- 3) 前川純子 : レジオネラの検査法の進歩. ワークショップ「レジオネラの細菌学」. 第 82 回日本細菌学会総会. 2009 年 3 月, 名古屋.

H. 知的所有権の取得状況

なし。

表1 調べた分離株数と臨床分離株の血清群の内訳

	臨床分離株	浴槽水分離株	冷却塔水分離株	総計
血清群 1	69	40	48	157
血清群 2	2			
血清群 3	5			
血清群 4	1			
血清群 5	7			
血清群 6	1			
血清群 9	1			
計	86	40	48	174

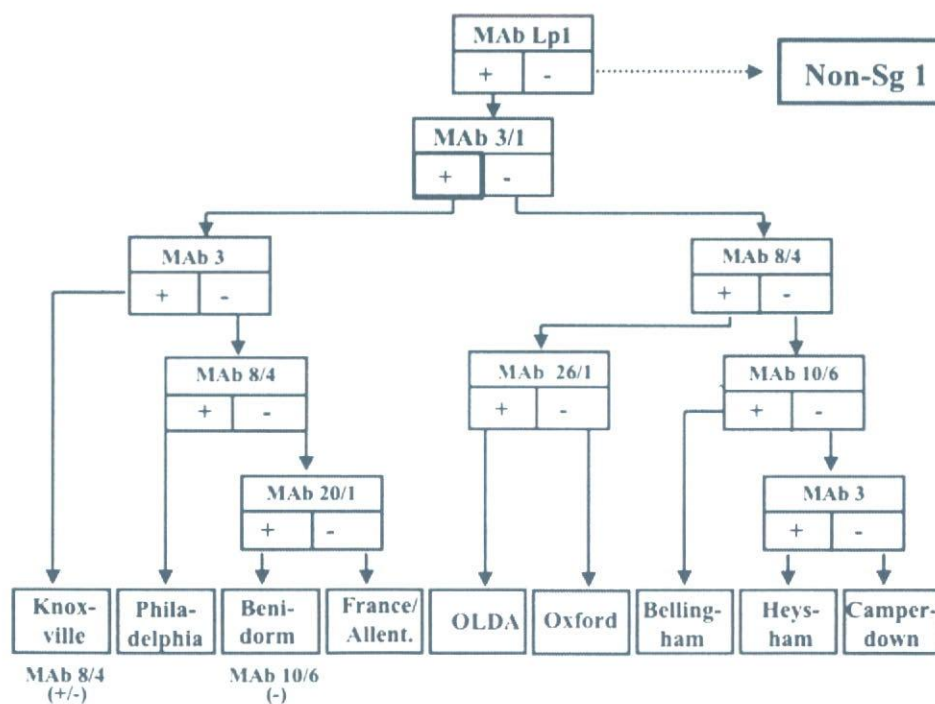


図1 6種のモノクローナル抗体を用いた *L. pneumophila* 血清群1の型別のチャート図(文献6の図を改変)。

表 2 臨床分離株と環境分離株の ST の分布

血清群 1									
ST	臨床分離株	%	浴槽水分離株	%	冷却塔水分離株	%	全て	MAb	
							%		
1	7	10.1	6	15.0	37	77.1	31.8	Oxford	OLDA
306	6	8.7	0	0.0	0	0.0	3.8	Benidorm	
138	5	7.2	1	2.5	0	0.0	3.8	Benidorm	Allent./France
120	5	7.2	0	0.0	0	0.0	3.2	Benidorm	
23	4	5.8	0	0.0	0	0.0	2.5	Allent./France	Philadelphia Oxford
122	2	2.9	1	2.5	0	0.0	1.9	Benidorm	
42	2	2.9	0	0.0	0	0.0	1.3	Benidorm	
118	2	2.9	0	0.0	0	0.0	1.3	Philadelphia	
123	2	2.9	0	0.0	0	0.0	1.3	Benidorm	
139	2	2.9	0	0.0	0	0.0	1.3	Allent./France	Benidorm
142	2	2.9	0	0.0	0	0.0	1.3	Allent./France	
92	1	1.4	1	2.5	0	0.0	1.3	Knoxville	Oxford
131	1	1.4	1	2.5	0	0.0	1.3	Allent./France	Benidorm
599	0	0.0	3	7.5	0	0.0	1.9	Bellingham	
52	0	0.0	2	5.0	0	0.0	1.3	Oxford	
86	0	0.0	2	5.0	0	0.0	1.3	Bellingham	
129	0	0.0	2	5.0	0	0.0	1.3	Bellingham	
136	0	0.0	2	5.0	0	0.0	1.3	Philadelphia	Oxford
154	0	0.0	0	0.0	4	8.3	2.5	Philadelphia	Oxford OLDA
598	0	0.0	0	0.0	3	6.3	1.9	Oxford	
150	0	0.0	0	0.0	2	4.2	1.3	Oxford	
Others	28	40.6	19	47.5	2	4.2	31.2		
Totals	69	100.0	40	100.0	48	100.0	100.0		

血清群 1 以外

ST	臨床分離株	%	血清群
430	3	17.6	3
A2	3	17.6	5
A5	2	11.8	5
Others	9	52.9	2,3,4,5,6,9
Totals	17	100.0	

ST = sequence type : 7 遺伝子座のプロファイルによる。

"A"が頭についているものは *neuA* を除く 6 遺伝子座のプロファイルによるもので、本研究において任意につけた番号。

Others : 1 株のみの ST。

A.



表3 モノクローナル抗体による *Legionella pneumophila* 血清群1の型別

MAb 型	MAb	臨床分離		浴槽水分		冷却塔水	
	3/1	株数	%	離株数	%	分離株数	%
Allentown/France	pos.	12	17.4	1	2.5	0	0.0
Bellingham	neg.	1	1.4	17	42.5	1	2.1
Benidorm	pos.	31	44.9	4	10.0	0	0.0
Camperdown	neg.	0	0.0	1	2.5	0	0.0
Heysham	neg.	0	0.0	1	2.5	0	0.0
Knoxville	pos.	5	7.2	1	2.5	0	0.0
OLDA	neg.	10	14.5	6	15.0	11	22.9
Oxford	neg.	3	4.3	6	15.0	35	72.9
Philadelphia	pos.	7	10.1	3	7.5	1	2.1
計		69	100.0	40	100.0	48	100.0

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）

迅速・簡便な検査によるレジオネラ対策に係る公衆浴場等の
衛生管理手法に関する研究

土壌から分離された *Legionella pneumophila* の鞭毛遺伝子型別について
-浴槽・給湯水、冷却塔水および臨床分離株との比較-

研究代表者	倉 文明	国立感染症研究所	細菌第一部
研究分担者	前川純子	国立感染症研究所	細菌第一部
研究分担者	常 彬	国立感染症研究所	細菌第一部
研究協力者	鈴木敦子	東京都予防医学協会	
研究協力者	市瀬正之	東京都予防医学協会	
研究協力者	古畑勝則	麻布大学	環境保健学部

研究要旨： 昨年度は日本各地の土壌から分離された *Legionella pneumophila* 33 株と都内の給湯水分離株 12 株について *flaA* 遺伝子の塩基配列の差異に基づく型別を行い、以前調べた浴槽水、冷却塔水および臨床分離株と比較した。今年度は、土壌分離株 48 株の結果を追加した。冷却塔水分離株は *flaA1* と *flaA11* の 2 つの遺伝子型が 88% を占める一方、浴槽水・給湯水分離株は *flaA2*、*flaA3*、*flaA6*、*flaA7* の 4 つで 85% となり、*flaA* 遺伝子型の分布に違いが見られる。土壌由来株の *flaA* 遺伝子型は、一部浴槽水由来のものと同重なっていたが、頻度が大きく異なり (*flaA2* と *flaA6* で 40%、*flaA3* と *flaA7* は合わせて 2% と少ない)、また浴槽水および冷却塔水分離株ではほとんど見られない遺伝子型 (*flaA5* と *flaA12* で 48%) も存在した。冷却塔水分離株に多い、*flaA1* と *flaA11* は見られなかった。したがって、土壌分離株、浴槽水・給湯水分離株、冷却塔水分離株のそれぞれで、*flaA* 遺伝子型の頻度が異なることが明らかとなった。臨床分離株の *flaA* 遺伝子型から感染源の推測がどの程度可能かを考察した。

A. 研究目的 (SBT) が疫学的に有用であることを分担
レジオネラ症の主要な起因菌である *L. pneumophila* 分離株について、遺伝子型別 研究報告「*Legionella pneumophila* の遺伝子型およびモノクローナル抗体型の解

析」において記述したが、7種類の遺伝子型を多数の菌株についてすべて調べるのは労力的にも費用的にも大変である。そこで、SBT に用いられる遺伝子の1つである鞭毛をコードしている *flaA* 遺伝子の塩基配列を多数の環境分離株について調べている。冷却塔水分離株は、*flaA1* と *flaA11* が多く、浴槽水分離株は、*flaA2*, 3, 6, 7, 10 が多く、両者で *flaA* 遺伝子型に明白な違いがある¹⁾。昨年度は土壌株 33 株と給湯水分離株 12 株について *flaA* 遺伝子の塩基配列の差異に基づく型別を行い、給湯水分離株は浴槽水分離株と似た傾向を示し、土壌分離株は浴槽水分離株とも冷却塔水分離株とも異なる *flaA* 遺伝子型の分布を示すことを明らかにした²⁾。今年度は、さらに土壌分離株 48 株の結果を追加した。昨年度に明らかになった傾向が株数を増やすことで追認できた。給湯水については、近年温度管理が行き届き、レジオネラが検出されることがまれになり、そのことは望ましいことであるが、新たな分離株を入手することができなかった。今回まとめた環境分離株の *flaA* 遺伝子型別の結果と、本報告書の分担研究報告「*Legionella pneumophila* の遺伝子型およびモノクローナル抗体型の解析」から得られた臨床分離株の *flaA* 遺伝子型別の結果についても比較した。

B. 研究方法

日本各地の土壌から分離された *L. pneumophila*³⁾ 48 株について、EWGLI

(European Working Group for *Legionella* Infections) の方法 (<http://www.ewgli.org/>) に従って、*flaA* 遺伝子の一部領域の塩基配列を決定し、型別を行った。また、デンカ生研のレジオネラ免疫血清 (1-15) により血清群を決定した。血清群が決まらないものについては *L. pneumophila* 特異的な *mip* プライマーによる PCR⁴⁾ を行って *L. pneumophila* であることを確認した。

C. 研究結果

今年度調べた土壌分離株 48 株、および昨年度調べた 33 株、合わせて 81 株について、*flaA* 遺伝子型別の結果を見ると、土壌分離株は *flaA5* が 30%、*flaA2* が 28%、*flaA12* が 19%、*flaA6* が 11% となり、昨年の結果 (*flaA2* が 42%、*flaA5* が 36%、*flaA6* が 12%、*flaA12* が 9%) との間に大きな違いはなかった。昨年も報告した冷却塔水分離株、浴槽水分離株および給湯水分離株の結果と、本報告書の分担研究報告「*Legionella pneumophila* の遺伝子型およびモノクローナル抗体型の解析」で調べた臨床分離株の *flaA* 遺伝子型の結果も参考のため併せて表 1 および図 1 に示した。浴槽水分離株と給湯水分離株の *flaA* 遺伝子型の分布が非常に似通っていたので¹⁾、それらの結果は一つにまとめた。昨年度の報告に比べ、臨床分離株数は 25 株増えている。

土壌分離株は *flaA2* や *flaA6* が見られるのは浴槽水・給湯水分離株と共通だが、ほか環境では頻度の低い *flaA5* や *flaA12*

が多いという特徴があった。

血清群については、土壌分離株は血清群 1 が最も多かった。これは他の環境および臨床分離株と同様である。ついで血清群 8 が多かった (表 1)。血清群 8 は他から検出されることはきわめて少ない。

D. 考察

以前の調査で、浴槽水分離株と冷却塔水分離株で *flaA* 型の分布が異なっていることを明らかにした¹⁾。

土壌分離株は *flaA2*、*flaA6* といった給湯・浴槽水分離株と共通の *flaA* 型も見られるものの、他の環境ではほとんど見られない *flaA5* が 30% と最も多く、*flaA12* も多く見られることが明らかとなった。土壌に存在するレジオネラ属菌の混入により、水環境のレジオネラ属菌汚染が起ると考えられているが、必ずしもそれを補強する結果は得られず、別の汚染源がある可能性も示唆された。あるいは *flaA5* や *flaA12* の菌株は土壌から浴槽水等に混入しても定着しにくいのかもかもしれない。最近では、レジオネラ症の感染源として水系以外に、土や塵埃も感染源となりうるということが認識され、土木工事や畑仕事等が感染源と推定されていることもある。土壌株の 30% を占める *flaA5* の株は EWGLI のデータベースによるとヨーロッパや北アメリカでは臨床から多数検出されているが、日本では臨床株の報告はない。土壌分離株から同程度検出される *flaA2* は、臨床分離株で最も多い遺伝子型である。

しかし、浴槽水から多く分離される型でもある。また、次いで土壌分離株によく見られる *flaA12* は他の環境からはほとんど検出されないものの臨床分離株から、頻度はあまり高くないが検出される。したがって土壌に存在する株がどの程度感染源になっているかは *flaA* の型別からはわからなかった。

温泉などの入浴施設が感染源と確定あるいは推定されている臨床分離株で見られる遺伝子型は *flaA2*、*flaA3*、*flaA6*、*flaA10* である⁵⁾。また、1 例ずつと少ないものの *flaA4*、*flaA7*、*flaA12* も見られた (未発表データ)。それらの遺伝子型は、頻度は必ずしも一致しないが、実際に浴槽水分離株でも見られる型である。一方、冷却塔水分離株で最も頻度が高い *flaA1* 型の臨床分離株はすべて感染源不明で、冷却塔水がどの程度実際に感染源となっているかは不明である。また、冷却塔水からしか分離されない *flaA11* は、ヨーロッパや北アメリカでは臨床から分離されているが、我が国では臨床分離例はない。*flaA8* は環境では冷却塔水からしか分離されないが、検出頻度が低いので、ほかの感染源がある可能性も考えられる。実際、感染源が判明している *flaA8* の臨床分離例の感染源は加湿器であった (未発表データ)。また、*flaA15*、*flaA23* は臨床分離株でのみ見られ、環境分離株は得られていない。

今後さらに、環境分離株および臨床分離株の型別数を増やして、遺伝子型の傾