

## ワクチン株様の RFLP を示す ムンプスウイルス野生株の分離と性状分析

斎藤 博之 高橋 義博 原田誠三郎 田中 恵子  
須藤 恒久 森田 盛大 山田 章雄 山崎 修道

我々は、秋田県大館市周辺において高頻度に無菌性髄膜炎を併発したおたふくかぜの流行事例を経験し、その時分離されたムンプスウイルスの中に、野生株であるにもかかわらず RFLP 鑑別法でワクチン株と判定されるものが多数含まれていることを見出した。本報ではこの分離株の遺伝子解析結果をふまえて流行形態について分子疫学的な考察を行った。

キーワード：ムンプスウイルス, PCR, RFLP

### I はじめに

1993年4月から1994年1月にかけて、秋田県大館市を中心に高頻度に髄膜炎を併発する流行性耳下腺炎が波状的に流行した。この時期に同地区で分離されたムンプスウイルスの性状を調べたところ、自然罹患（ワクチン未接種）にもかかわらず *Bam* HI と *Eco* O109I を用いる PCR-RFLP 法<sup>1)</sup> によってワクチン由来株（占部株）と判定されるものが含まれていた。そこで、そのウイルスの起源を調べる一貫として遺伝子解析を行ったので報告する。

### II 方法

【材料】ムンプスウイルスは自然罹患したおたふくかぜ患者咽頭拭液または髄液より Vero 細胞を用いて分離し、HI 試験により同定した。また、RFLP による鑑別試験には分離株を用いる他に、後述する nested PCR 法による検体からの直接検出も併用した。

【PCR-RFLP】ウイルス培養上清、または検体から直接グアニジンチオシアネート法により RNA を抽出し、以下の条件により nested PCR を行った。

1st. PCR プライマー

MPF1 5' AACCAACTCGTTGAGCAAGG 3'

MPR1 5' TGAACCTGTTGGTTGGATAG 3'

2nd.. PCR プライマー

MPF2 5' TACTCATTGGCAATCCAGAG 3'

MPR2 5' TCCTGATAAACGGTGGTGAC 3'

反応条件 (1st. 2nd. PCR 共通)

Denature 94°C 2分

Annealing 44°C 3分

Extension 72°C 2.5分

サイクル数 35回

これにより RFLP 判定領域を含む 199bp の断片を増幅することができた (図1, 2参照)。通常の野生株ならば、得られた断片を *Bam* HI と *Eco* O109I で処理することにより、いずれか一方で切断され 57bp と 122bp の断片に分かれるが、占部ワクチン株の場合はどちらでも切断を受けないのが RFLP 鑑別法<sup>1)</sup> の原理である (図1, 3参照)。

【塩基配列決定】PCR で増幅した DNA 断片 199bp を pUC18 にクローニングした後、ジデオキシ法により塩基配列を決定した。ワクチン株等の既知の配列は GenBank より検索した。

### III 結果

1993年10月から1994年1月までの間に大館地区の患者から分離同定されたムンプスウイルス9株について上記の方法で解析を行ったところ、3株が占部株型の RFLP を示した。また、1993年4月から1994年1月にかけて同地区より採取した検体から直接遺伝子を検出したものについては、36例 (分離に成功した9例も含む) 中19例が占部株型であった。しかし、1994年2月以降は、1996年10月現在までこの型のウイルスは検出されていない。これらの検出結果を月別に整理したのが図4である。

次に、この占部株型の RFLP を示した流行株と占部ワクチン株との異同をさらに感度の高い方法で調べるために、増幅した DNA 断片15例について SSCP 法で比較解析したところ、いずれもワクチン株とは区別される性状を示した (データ省略)。さらにこれを確認するために占部株型の RFLP を示す分離株について PCR 産

図1 ムンプスウイルス検出用PCRプライマーのデザイン

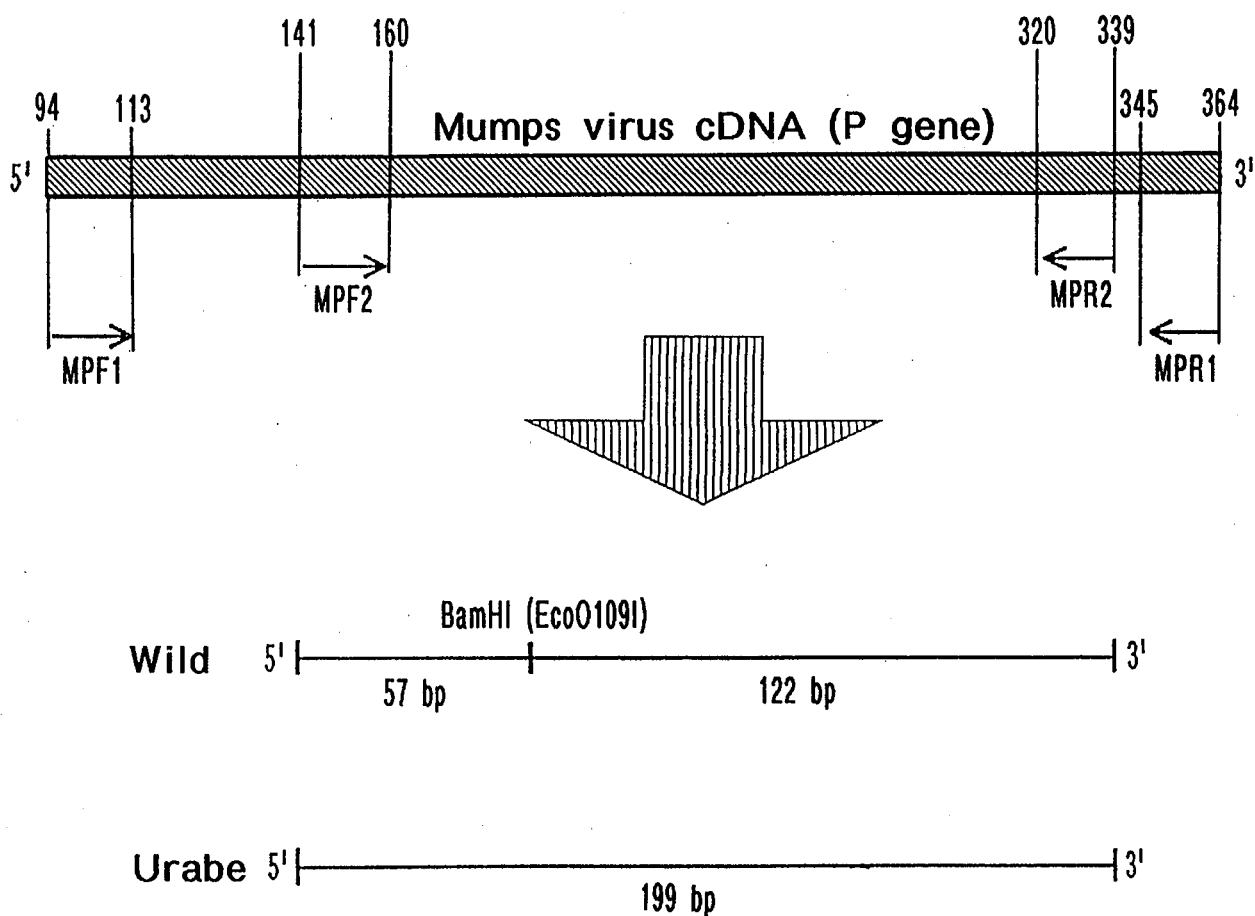
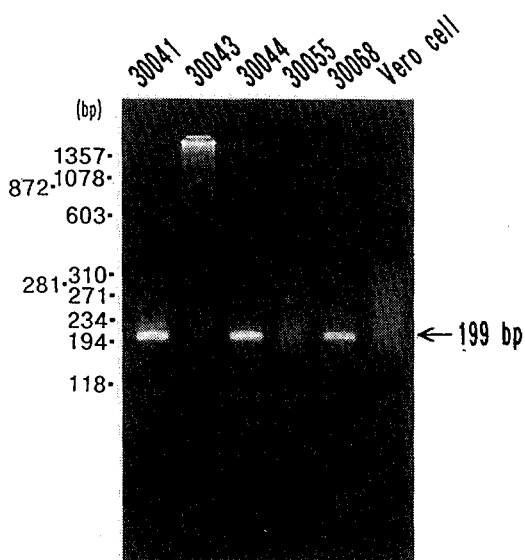


図2 RT-PCRによるムンプス遺伝子の検出  
検体番号30041, 30044, 30068が陽性で30043と  
30055は陰性である.



物の塩基配列を決定し、これまでに知られているウイルス株のそれと比較した結果が図5である。これによると、ODATE-1 ~ ODATE-3 株は占部ワクチン株と同様に199番塩基がAからGに置換した結果、*Bam* HI 切断

部位が消失していることがわかった。さらに、占部ワクチン株と比較して4カ所に塩基置換が認められた。この4カ所の塩基置換は、これまで知られている野生分離株、及び他のワクチン株 (Miyahara, Torii, Hoshino) と比較しても共通するものはなかった。図6には該当する遺伝子領域のアミノ酸配列の比較をしめしたがODATE-1 株は占部ワクチン株と比べて2カ所に置換が認められた。

この大館地区におけるおたふくかぜの流行は、無菌性髄膜炎が多発したことが特徴であったが、臨床的な髄膜炎 (髄膜刺激症状と20/3 cells per  $\text{cm}^3$  以上のCSF preocytosis をもって診断) の有無と検出されたウイルスの型を整理した結果を図7に示した。占部株型のRF L Pを示すムンプスウイルスが検出された19症例の内14例が髄膜炎を併発していた。一方、通常の野生型ウイルスが検出された症例での髄膜炎併発は14例中4例であった。

図8には報告された患者住所をもとに作成した発生地図を示した。同時期に異なる型のウイルスが流行していること、及びそれらが狭い地域に限定して発生していること (占部株型は大茂内~下代野地区、及び池内~餌釣地区、通常の野生型は大館駅前一帯と花岡地区) が見て

図3 RFLP法による型鑑別

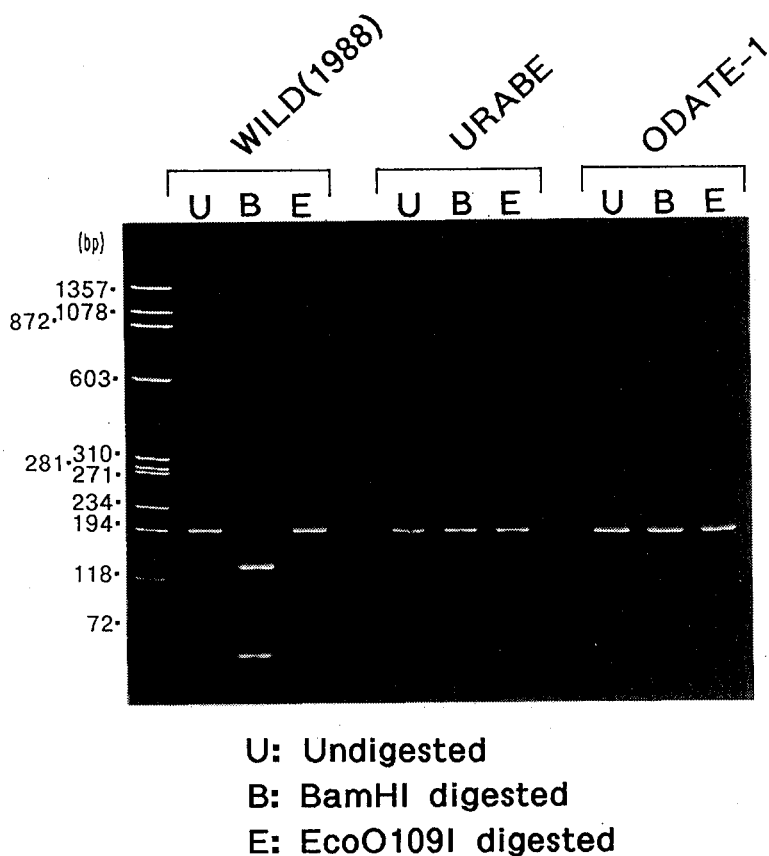


図4 ムンプスウイルスの月別検出状況

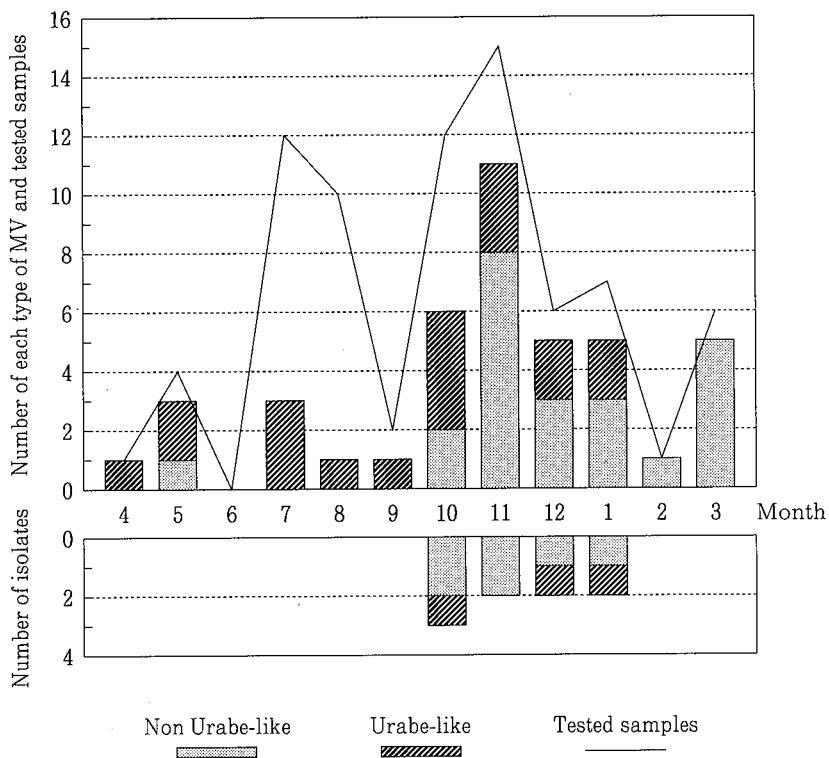


図5 ムンプスウイルスの塩基比較

箱で囲った部分はRFLP法に用いられる判定部位 (BamHI 切断部位) である。

MATSUMOTO	163	AAAGAACA	TTCAGTACCC	CACCACATCA	CATCAGGGAT	CCAAGTCAA	210
URABE	163	.....	.....	.....	...G...	.....	210
ODATE-1	163	.....	.....	...TG..C..	...G...	.....	210
ODATE-2	163	.....	.....	...TG..C..	...G...	.....	210
ODATE-3	163	.....	.....	...TG..C..	...G...	.....	210
30241(AKITA)	163	.....	.....	...T...	.....	.....	210
30355(AKITA)	163	.....	.....	.....	.....	.....	210
30392(AKITA)	163	..G.....	.....	.....	.....	.....	210
MIYAHARA	163	.....	.....	.....	.....	.....	210
MAKINO	163	.....	.....	.....	...C...	.....	210
HAMANISH	163	.....	.....	.....	.....	...G..	210
TORII	163	.....	.....	.....	.....	.....	210
HOSHINO	163	.....	.....	...T.....	.....	.....	210
ENDERS	163	.....	...C....	T...G.....	.....	.....	210
MATSUMOTO	211	GGGCAGAGGC	TCAGGGGCCA	GGCCCATCAT	AGTCTCATCC	TCCGAAGGAG	260
URABE	211	.....	.....	.....	.....	.....	260
ODATE-1	211	.....	.....	.....	.....	.....	260
ODATE-2	211	.....	.....	.....	.....	.....	260
ODATE-3	211	.....	.....	.....	.....	.....	260
30241(AKITA)	211	.....	.....	.....	.....	.....	260
30355(AKITA)	211	.....	.....	.....	.....	.....	260
30392(AKITA)	211	.....	.....	.....	.....	.....	260
MIYAHARA	211	.....	.....	.....	.....	.....	260
MAKINO	211	..A.....	.....	.....	.....	.....	260
HAMANISH	211	.....	.....	.....	.....	.....	260
TORII	211	.....	..C.....	..A.....	.....	.....	260
HOSHINO	211	.....	.....	.....	.....	.....	260
ENDERS	211	.....	.....	..T..	..T.....	...C..C..	260
MATSUMOTO	261	GCACTGGAGG	GACTCAGATT	CCTGAGCCCC	TTTTCGCACA	AACAGGACAA	310
URABE	261	.....	.....	.....	.....	.....	310
ODATE-1	261	.....	.....	.....	.....	.....	310
ODATE-2	261	.....	.....	.....	.....	.....	310
ODATE-3	261	.....	.....	.....	.....	.....	310
30241(AKITA)	261	.....	.....	.....	.....	.....	310
30355(AKITA)	261	.....	.....	.....	.....	.....	310
30392(AKITA)	261	.....	.....	.....	.....	.....	310
MIYAHARA	261	.....	.....	...G..	.....	.....	310
MAKINO	261	.....	.....	..C.....	.....	.....	310
HAMANISH	261	.....	.....	.....	.....	.....	310
TORII(V)	261	.....	.....	.....	.....	.....	310
HOSHINO	261	.....	.....	.....	.....	.....	310
ENDERS	261	...A.....	.....	.....	...T.....	.....G	310
MATSUMOTO	311	GGTGGCATT	319				
URABE	311	.....	319				
ODATE-1	311	...T...	319				
ODATE-2	311	...T...	319				
ODATE-3	311	...T...	319				
30241(AKITA)	311	.....	319				
30355(AKITA)	311	.....	319				
30392(AKITA)	311	.....	319				
MIYAHARA	311	.....	319				
MAKINO	311	.....	319				
HAMANISH	311	.....	319				
TORII	311	.....	319				
HOSHINO	311	.....	319				
ENDERS	311	...T..A	319				

図6 ムンプスウイルスのアミノ酸配列比較

	60	70	80	90	100			
URABE	55	KNIQYP	TTSHQGSKSK	GRGSGARPII	VSSSEGTTGG	TQIPEPLFAQ	TGQGGI	106
ODATE-1	55	.....	..AP.....	.....	.....	.....	.....	106

取れる。また、この中には家族内感染と思われる事例も含まれていた。

#### IV 考察

今回問題となったウイルス株（大館株と命名する）は、RFLPの判定に使われる *Bam* HI 切断部位においては占部ワクチン株と共通していたが、他の部位に特徴的な塩基置換があるため同一の株ではないと考えられる。しかし、その起源（ワクチンの野生化の可能性等）に関する情報については、より広範な遺伝子解析の結果を待たなければならない。RFLP鑑別法は、平成元年に導入されたMMRワクチンの接種に伴う副反応の検査に盛んに用いられた経緯があり<sup>3)</sup>、その簡便さ故に現在でも利用している検査室も多い。しかし、野生株でもワクチン株と判定されるケースもあることが本事業で明らかとなったため、今後の検査利用には注意が必要である。塩基配列を決定すれば完全に鑑別できることは言うまでもないが、SSCP法によっても大館株とワクチン株は区別できるので多数の検体を扱う場合にはこちらが現実的であると考えられた。

臨床的な特徴として高頻度に髄膜炎を併発したことがあげられるが、図7によると大館株が検出された症例の

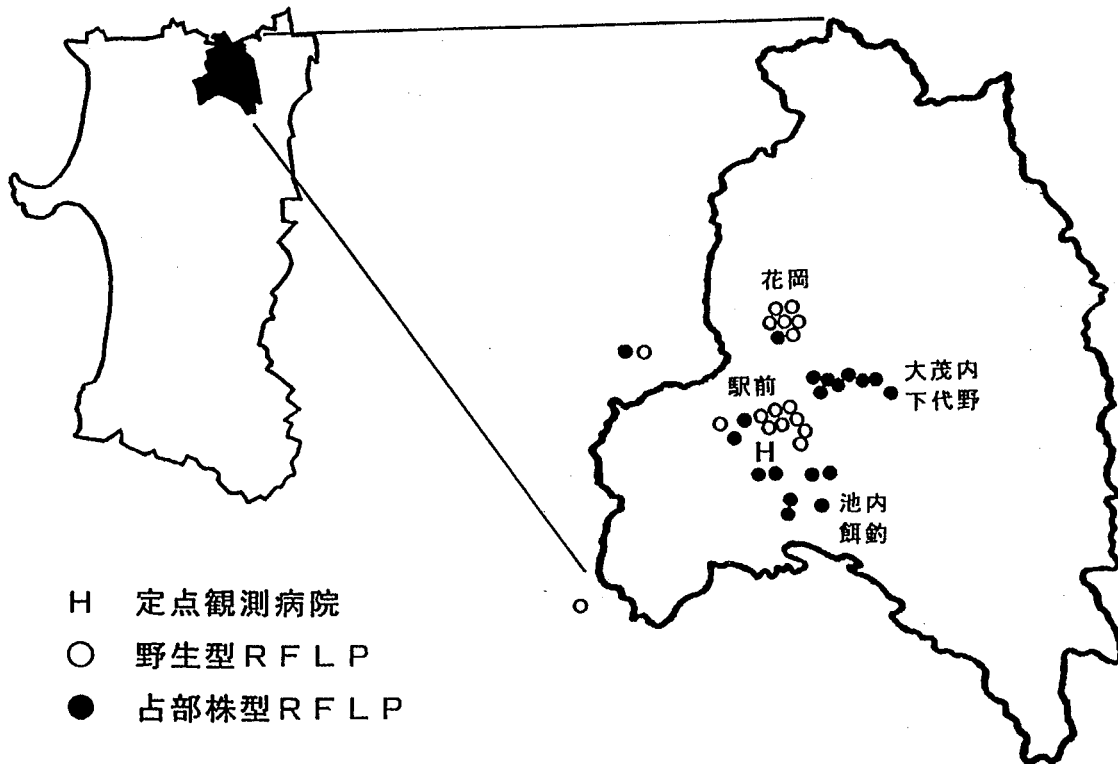
図7 髄膜炎併発例とRFLPの関係  
(平成5年4月～平成6年1月)

		RFLP		
		野生型	占部株型	
髄膜炎	-	13	5	18
	+	4	14	18
		17	19	

7割以上が髄膜炎を併発しており、その相関は明らかである。病原性と塩基置換の関係は未だ不明ではあるものの、髄膜炎好発株として大館株を分離できたことは、髄膜炎発症機序の解明のためのモデルになる他、安全なワクチン開発のための対照株として用いることができるなど極めて意義深いものと考えられる。

流行の形態としては、大館市の同一地区内で流行しており家族内感染も含まれること、及び、1994年2月以降検出されていないことから、ある期間限定された地域における流行であったと考えられる。

図8 大館市内におけるムンプス患者の分布（平成5年4月～平成6年1月）



## V 文 献

1. Yamada, A. et al. Differentiation of the mumps vaccine strains from the wild viruses by the nucleotide sequences of the P gene. *Vaccine* 1990 ; 8 : 553-557.
2. Katayama, K. et al. Differentiation of mumps vaccine strains from wild viruses by single-strand conformation polymorphism of the P gene. *Vaccine* 1993 ; 11 : 621-623.
3. 山田章雄, 他. ムンプスワクチン接種に伴う無菌性髄膜炎の起因ウイルスの鑑別法. *実験医学* 1990 ; 8 : 1181-1184

# 秋田県内におけるレジオネラ属菌の汚染実態 および分離菌のAP-PCR法による型別について

木内 雄 八柳 潤 齊藤志保子 佐藤 宏康

秋田県内におけるレジオネラ属菌の汚染状況を把握するため、特定建築物の冷却塔水、給湯水および温泉保養施設の源泉水、浴槽水の実態調査を実施した。冷却塔水からは42.0%、給湯水からは18.9%、源泉水からは32.0%、浴槽水からは41.9%のレジオネラ属菌が分離され、県内でのレジオネラ属菌の汚染が明らかとなった。冷却塔水と給湯水に高頻度に検出された菌は *Legionella pneumophila* の血清群1（以下 L. P SG1 と略す）で、この菌種が県内に広く分布していることが明らかとなった。冷却塔水中のレジオネラ属菌数には季節変動が認められた。一方、給湯水からはレジオネラ属菌が多種類検出されたが、*Legionella bozemanii*（以下 L. bozemanii と略す）等の様に、一種類のレジオネラ属菌が特定の施設から断続的に分離される傾向が認められた。源泉水及び浴槽水中のレジオネラ属菌数では季節変動は認められなかったが、分離菌種は給湯水と同様に特定の施設から同一菌種が断続的に分離される傾向が認められた。

また、県内に広く分布していると推測される L. P SG1 の生態を解明するため、冷却塔水等から分離された菌を対象として Arbitrarily primed PCR（以下 AP-PCR と略す）を検討したところ、幾種類かのパターンに分類が可能であり、この手法を利用した疫学的な解析法は有用であると考えられた。

キーワード：Legionella pneumophila 血清群1，季節変動，冷却塔水，AP-PCR 法

## I はじめに

レジオネラ症は1970年代後半、米国でレジオネラ肺炎（在郷軍人病）と非肺炎型のポンティアック熱の2つの病型が発表されて以来、世界各国から多数の散発例や集団発生例が報告されている<sup>1)</sup>。

日本においてはレジオネラ症の組織的な調査は実施されていないが、厚生省レジオネラ症研究班によれば、1979年から1992年までの14年間にレジオネラ肺炎と診断された患者は80例で海外の報告例と比較して少ない。しかし、致命率は市中感染者で26%、院内感染者では53%と外国のそれより高率であった<sup>2)</sup>。レジオネラ属菌は自然界の土壌や水に広く生息し、本菌に汚染された冷却塔水、温泉、渦流浴等がレジオネラ症の感染源になり得ると言われている。その中でも、冷却塔はエアロゾルを大量に飛散するため、レジオネラ症の感染源として非常に重要視されている<sup>3)</sup>。また、給湯水についてもレジオネラ属菌による高度汚染が近年明らかとなってきた<sup>4)</sup>。

レジオネラ症の感染源として重要な人工環境水中におけるレジオネラ属菌の汚染実態を把握することは、環境衛生上重要である。しかし、秋田県内での汚染調査は行われておらず、その実態も明らかとはなっていない。我々は平成7年度から特定建築物の冷却塔水および給湯水また温泉保養施設の源泉水および浴槽水を対象とし、汚染の実態把握を目的としたレジオネラ属菌の調査を実施した。また冷却塔水について分離された L. P SG1 に

ついて AP-PCR を行い、疫学解析法としての有用性について検討したので併せて報告する。

## II 材料と方法

### 1. 実態調査

#### 1) 調査対象施設及び検体採取

表1に示した秋田県内の特定建築物10施設、温泉保養施設10施設を検査定点とし、冷却塔水および給湯水については1995年6月から1996年5月まで毎月採取した。ただし、冷却塔水については、稼働期間中のみ採取した。源泉水及び浴槽水については1995年6月から1996年4月までの偶数月に採取した。特定建築物については冷却塔水69検体、給湯水106検体の計175検体、また温泉保養施設については源泉水50検体、浴槽水62検体の計112検体を供試した。

#### 2) 方法

「厚生省監修：レジオネラ症防止指針」に従い、以下の方法<sup>5)</sup>で検査を実施した。

- ① 検水200mlを6000回転30分冷却遠心し、得られた沈渣に滅菌蒸留水1mlを加えた。
- ② 0.2M HCl・KCl バッファー (pH 2.2) を1ml加え、検水の100倍濃縮液とし25°C 4分放置した後、100μlをMWY寒天培地に塗布し、37°C、5~7日間培養した。

③灰白色湿潤集落のコロニー数をカウントし、L-システイン要求性を確認した。

④L-システイン要求性の菌株をレジオネラ属菌と推定し、更に血清学的試験により同定を試みた。

⑤血清学的に同定できなかった菌株については、Legionella 属（以下 LEG と略す）および L. pneumophila（以下 LP と略す）を同定するためのPCR法を行った。

## 2. AP-PCR解析

実態調査を実施した冷却塔から分離された L. P SG1 24株と、源泉水および浴槽水から分離された L. P SG1 6株を供試した。

AP-PCRは Alex van Belkum らの方法に準じて図1に示す方法<sup>6), 7)</sup>で実施した。

図-1 AP-PCR 条件

Primers		Heat cycle	
AS-11	5'- TGC AGG ACA AAT GCA ACG AGT -3' 21mer	denaturation	1min at 94°C
AS-21	5'- TGC ACG GCA AAA TGG TAT TGC -3' 21mer	annealing	1min at 25°C
AP-PCR Reaction Mixture		extension	2min at 74°C
KCl	50 mM	40 cycles	
Tris-HCl	10 mM (pH9.0)	Electrophoresis	
TritonX-100	0.01 %	2% agarose gel	
dNTP	100 μM		
Primer	1 μM		
MgCl <sub>2</sub>	2 mM		
Taq DNA polymerase (Tic Tac)	0.5 U/20 μl		
Total volume	20 μl		

## III 結果及び考察

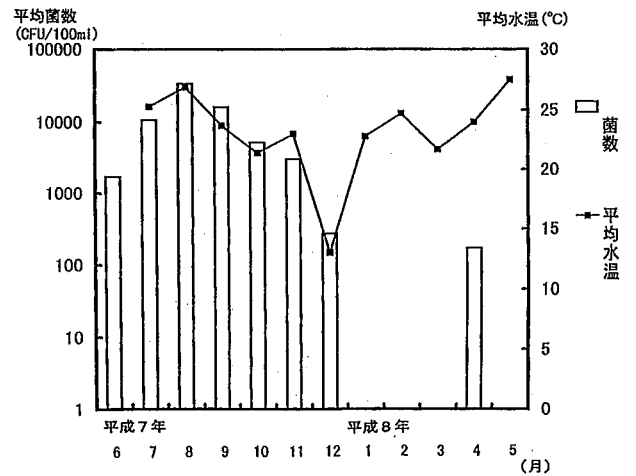
### 1. 実態調査

表1に示すように冷却塔水において、レジオネラ属菌は69検体中29検体（陽性率42.0%）から分離された。調査した6月から翌年の5月までのうち7, 8, 9月の陽性率は60%を越えており、特に9月は80%と最も高い陽性率であった。一方、冷却塔水中のレジオネラ属菌数は図2に示したように7, 8, 9月に増加しこれに伴いレジオネラ症防止指針に定める要注意範囲（ $10^3 \sim 10^5$  未満/100ml<sup>8)</sup>）に達する施設が7月に3施設、8月に5施設、9月に3施設認められた。このことは夏期の気温の上昇に伴い、冷却塔水の水温が上昇したと関連があると考えられた。

表-1 特定建築物、温泉保養施設からのレジオネラ属菌月別検出状況（平成7年）

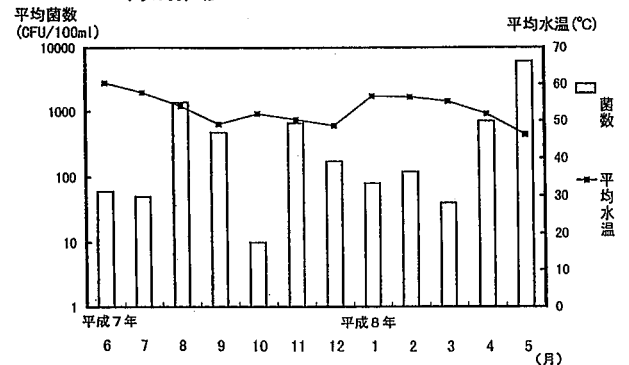
	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	4月	5月	合計
冷却塔水	検査施設数 10	10	10	10	8	3	3	3	3	3	3	3	69
	分離陽性数 1	6	6	8	5	1	1	0	0	0	1	0	29
	陽性率(%) 10.0	60.0	60.0	80.0	62.5	33.3	33.3	-	-	-	33.3	-	42.0
給湯水	検査施設数 9	9	9	9	9	9	9	9	8	8	9	9	106
	分離陽性数 1	2	3	2	1	2	2	1	1	1	2	2	20
	陽性率(%) 11.1	22.2	33.3	22.2	11.1	22.2	22.2	11.1	12.5	12.5	22.2	22.2	18.9
源泉水	検査施設数 9	9	9	9	8	7	8	7	8	8	8	8	50
	分離陽性数 1	2	3	3	2	2	4	4	4	4	4	4	16
	陽性率(%) 11.1	22.2	33.3	33.3	25.0	57.1	50.0	50.0	50.0	50.0	50.0	50.0	32.0
浴槽水	検査施設数 10	11	11	11	10	8	9	9	9	9	9	9	62
	分離陽性数 3	2	2	6	5	3	7	7	7	7	7	7	26
	陽性率(%) 30.0	18.2	18.2	54.5	50.0	37.5	70.0	70.0	70.0	70.0	70.0	70.0	41.9

図-2 特定建築物の冷却塔水におけるレジオネラ属菌数の月別推移



給湯水については表1よりレジオネラ属菌が106検体中20検体（陽性率18.9%）から分離され、月毎の陽性率は10%~30%台を示し、大きな月別変動は認められなかった。また、菌数の月別推移を図3に示したが、顕著な月別変動は見られなかった。このことは給湯器が季節に関係無く、一定の温度調節がなされているためと推察された。

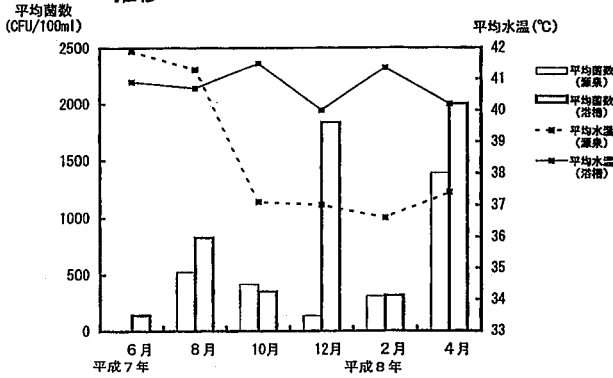
図-3 特定建築物の給湯水におけるレジオネラ属菌数の月別推移





温泉保養施設では源泉水については表1より50検体中16検体(陽性率32.0%)から、浴槽水については62検体中26検体(陽性率41.9%)からレジオネラ属菌が分離された。また図4に示すように明らかな菌数の季節変動は確認されなかった。

図-4 温泉保養施設におけるレジオネラ属菌数の月別推移



一方、表2に示したように分離された菌種は L. P SG1 が10施設中9施設から分離され、この菌種が広範囲に存在していることが明らかとなった。給湯水から分離された菌種に関しては、L. P SG1 の分離数が多かったが、L. bozemanii, L. micdadei, L. P SG6 等、多種類のレジオネラ属菌が断続的に分離され、ある施設では L. bozemanii などの特定のレジオネラ属菌が常在している可能性が示唆された。源泉水及び浴槽水から分離されたレジオネラ属菌の菌種に関しては、冷却塔水とは異なり、L. P SG1 以外の LP も頻りに分離され、L. P SG1, SG3, SG4, SG5, SG6 が特定の施設に常在している傾向がみられた。

表-2 分離されたレジオネラ属菌及び検出施設数

菌名	(血清群)	分離株数(%)	検出施設数*			
			冷却塔水	給湯水	源水	浴槽水
L. pneumophila	1	37 (32)	9	3	1	3
L. pneumophila	3	4 (3)	-	-	1	2
L. pneumophila	4	6 (5)	-	-	2	2
L. pneumophila	5	12 (10)	-	1	1	2
L. pneumophila	6	15 (12)	-	1	3	4
L. pneumophila	UT	3 (3)	-	-	1	1
L. bozemanii		9 (7)	3	2	-	-
L. micdadei		2 (2)	-	1	-	-
Legionella spp.		30 (26)	3	3	4	7
合計 118 (100)						

※) 調査対象施設数 冷却塔水 10箇所 給湯水 9箇所  
源水 9箇所 浴槽水 10箇所

## 2. AP-PCR解析

冷却塔水から分離された L. P SG1 24株についての AP-PCRを行ったところ、図5に示すとおり4種のパターン(A型, B型, C型, D型)に型別することが可能であった。1種(D型)を除いた3種のパターンは、約400bp以上のDNA増幅断片の領域では違いは認められなかったが100bpから400bpの領域の増幅断片に違いが認められた。また図6に示したように温泉保養施設から検出された L. P SG1 6株は泳動パターンが多彩で5つの型(E型, F型, G型, H型, I型)に分類された。しかも冷却塔のパターンと比較すると明らかに異なっていた。また表3に示したように、冷却塔水の採取施設別に検出された菌のAP-PCRパターンを検討したところ、b施設, f施設, 及びi施設では同じパターンの L. P SG1 が継続的に検出された。特に秋田市から約40キロ離れたi施設では、他の施設から検出されなかったパターンを持つ L. P SG1 (C型)のみが検出された。このことより、ある施設の冷却塔には特定のパターンを示す L. P SG1 が常在していると推測された。

これらのことから、AP-PCR法は L. P SG1 の疫学解析に有用であることが示唆された。

図-5 冷却塔水から分離された L. P SG1 の AP-PCRパターン

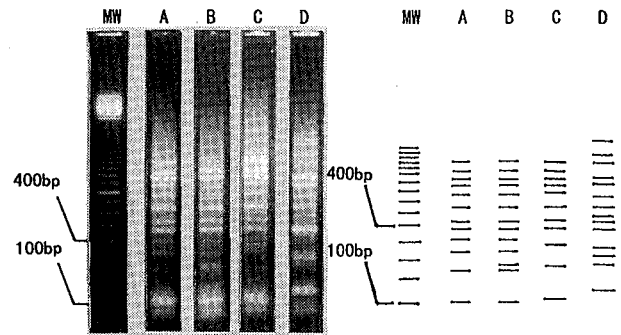


図-6 冷却塔水と温泉水から分離された L. pneumophila SG1 の AP-PCRパターンの比較

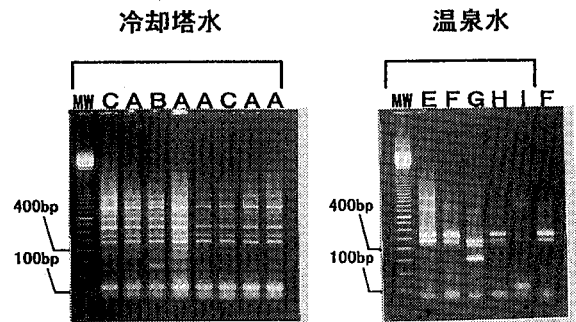


表-3 特定建築物の冷却塔水から検出された  
L. P SG1 の AP-PCR パターン

Cooling Towers	AP-PCR pattern (Number of Isolates)
1. a	A(2), B(1)
2. b	A(6)
3. c	A(2)
4. d	A(1), D(1)
5. e	A(1)
6. f	B(4)
7. g	B(1)
8. h	B(1)
9. i	C(4)
10. j	-

#### IV まとめ

1. 秋田県内のレジオネラ属菌の分離率は、冷却塔水42.0%、給湯水18.9%、源泉水32.0%、浴槽水41.9%であった。
2. 冷却塔水、給湯水ともに高頻度に検出された菌種は L. P SG1 であり、この菌種が秋田県内でも広く存在していることが明らかとなった。
3. 冷却塔水中のレジオネラ属菌数には季節変動が認められたが、これは冷却塔内の水温の季節変動に関連していると考えられた。また、夏期の菌数が要注意範囲に達する施設が確認されたことは、これからの施設管理指導を行う上で検討すべき課題と考えられた。
4. 給湯水中のレジオネラ属菌数には明らかな季節変動は認められなかった。また分離菌種については、冷却塔水と比較して、L. bozemanii, L. micdadei, L. P SG6 等と多彩であり、特に L. bozemanii など種類のレジオネラ属菌が、特定の施設から断続的に分離される傾向が認められた。
5. 源泉水及び浴槽水のレジオネラ属菌数では季節変動は認められなかったが、 $10^3 \sim 10^5$  未満/100ml に達する施設が半数を占めた。また分離菌種では L. P

SG1 と同程度に L. P SG3, SG4, SG5, SG6 が確認され給湯水と同様に特定の施設から断続的に分離される傾向が認められた。

6. 冷却塔水から分離された L. P SG1 は AP-PCR パターンが4種に型別可能であること、また、冷却塔水由来 L. P SG1 と温泉水由来 L. P SG1 の AP-PCR パターンは異なることが確認されたため、AP-PCR 法は L. P SG1 の疫学解析の手法として有用であると考えられた。

#### V 文献

- 1) ビル管理教育センター. 序文. 厚生省監修. レジオネラ症防止指針. 東京:ビル管理教育センター, 1994; 1-5
- 2) ビル管理教育センター. レジオネラ症の臨床. 厚生省監修. レジオネラ症防止指針. 東京:ビル管理教育センター, 1994; 2-5
- 3) ビル管理教育センター. レジオネラ属菌の細菌学. 厚生省監修. レジオネラ症防止指針. 東京:ビル管理教育センター, 1994; 6-10
- 4) 古畑 勝則, 他. 給湯水におけるレジオネラ汚染とその対策. 日本公衛誌, 1994; 41; 1073-1082
- 5) ビル管理教育センター. レジオネラ属菌検査の実際. 厚生省監修. レジオネラ症防止指針. 東京:ビル管理教育センター, 1994; 32-39
- 6) ALEX VAN BELKUM, MARK STRUELENS, WIN QUINT. Typing of Legionella pneumophila Strains by Polymerase Chain Reaction-Mediated DNA Fingerprinting. J. Clin. Microbiol, 31; 1993; 2198-2200
- 7) E. Ledesma, et al. Subtyping of Legionella pneumophila isolates by arbitrarily primed polymerase chain reaction. Can. J. Microbiol, 1995; 41; 846-848
- 8) ビル管理教育センター. レジオネラ属菌の検出菌数とその意義付け. 厚生省監修. レジオネラ症防止指針. 東京:ビル管理教育センター, 1994; 19