

## 当センターにおける *Mycobacterium gordonae* の分子疫学的解析

<sup>1</sup>吉田志緒美    <sup>1</sup>鈴木 克洋    <sup>4</sup>岩本 朋忠    <sup>1</sup>露口 一成  
<sup>2</sup>富田 元久    <sup>1</sup>岡田 全司    <sup>3</sup>坂谷 光則

**要旨:**〔目的〕臨床検体ならびに院内汚染環境から分離された *Mycobacterium gordonae* の分子疫学的解析。〔対象〕NHO近畿中央胸部疾患センターを受診した患者から分離された46株と、院内環境から分離された3株。〔方法〕パルスフィールド電気泳動法 (PFGE), *hsp65*PRA解析と16S rRNA遺伝子シーケンス解析から多型性を調べた。〔結果〕*hsp65*PRAでは13種類の遺伝子型が認められ、16S rRNA遺伝子解析の結果から *M. gordonae* 症由来株は環境由来株とは一致しなかった。さらにPFGEの結果から *M. gordonae* 症の複数菌感染が示唆されたが、院内におけるアウトブレイクは認められなかった。〔考察〕院内の環境汚染に対する監視を継続し、必要時に *M. gordonae* に対する徹底した疫学的環境調査を実施できる体制を構築することが重要である。

**キーワード:** *Mycobacterium gordonae*, 16S rRNA 遺伝子シーケンス, *hsp65*PRA, PFGE, 複数菌感染

### はじめに

*Mycobacterium gordonae* は土壌や水系に広く分布している暗発色性の遅発菌である。雑菌性の抗酸菌とされているが、時にヒトに対して病原性が認められる。肺疾患既往歴のあるヒトや免疫低下の患者への感染症<sup>1)2)</sup>のみならず、健康者における感染症も報告されている<sup>3)4)</sup>。

本菌種に対する分子遺伝学的解析から、16S rRNA 遺伝子に菌種内変異 (sequevar, sqv) が認められ<sup>5)</sup>、また *rpoB* 遺伝子<sup>6)</sup> や *hsp65*PRA の領域<sup>7)</sup> の塩基配列に多型性が認められている。そこで、今回われわれは当センターから分離された患者由来株と院内環境から分離された株について遺伝子型の特異性を行い、院内アウトブレイクならびに臨床的意義との関係について検討した。

### 材料と方法

**臨床分離株:** 2007年1月1日~12月31日の期間、当センターに受診された38患者から分離され、アキュプロープ マイコバクテリア ゴルドネ研究用 (極東製薬工業) を用いた検査により *M. gordonae* と同定された38株

を使用した。また、多剤耐性結核 (MDR-TB) 患者病棟に入院中の MDR-TB 患者2名から2008年10月2日と12月11日に *M. gordonae* が各1回ずつ分離された。何らかの迷入もしくは院内環境からの疑似アウトブレイクの可能性を疑い、これら2株に加え、2008年10月1日~12月31日の期間中、他の入院患者6名から分離された *M. gordonae* 6株を合わせて46株を解析対象とした。今回、肺非結核性抗酸菌症の診断基準<sup>8)</sup> を満たした患者は6名であり、1名のみ初発時 (2007年3月) と再発時 (2008年10月) に排菌していた。したがって菌の異同の確認のため、この患者のみ初発時と再発時の1株ずつを対象とした。45名の年齢構成は25~86歳 (平均67.7歳)、性別は男性33名、女性12名であった。

**環境分離株:** 院内から採取されたサンプル水は臨床分離株と同様に集菌、スプータメントゾル処理を施し、得られた100  $\mu$ l 沈渣を用いて培養を試みた。2007年12月に実施した院内環境調査では、外来に設置されている採痰室の手洗い水道水とネブライザー由来の水から *M. gordonae* が各1株分離された。さらに2009年1月実施の院内環境調査の結果、MDR-TB患者病棟内に設置され

<sup>1</sup>独立行政法人国立病院機構近畿中央胸部疾患センター臨床研究センター、<sup>2</sup>同臨床検査科、<sup>3</sup>同内科 (現:精華町国民健康保険病院)、<sup>4</sup>神戸市環境保健研究所

連絡先: 吉田志緒美, 独立行政法人国立病院機構近畿中央胸部疾患センター臨床研究センター, 〒591-8555 大阪府堺市北区長曾根町1180 (E-mail: dustin@kch.hosp.go.jp)  
 (Received 21 Dec. 2009/Accepted 16 Feb. 2010)

**Table 1** *M. gordonae* strains which had concordant results by both *hsp65*PRA method and 16S rRNA gene sequencing

		<i>hsp65</i> PRA type													
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	NP3	NP13	NP22	New pattern
16S rRNA gene	sqv I	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	sqv II	3**	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
	sqv III	0	0	0	0	2	0	4 (1)	0	0	0	0	0	0	0
	sqv IV	0	0	2 (1)*	0	0	0	0	0	0	6	0	1 (1)	1 (1)	1 (1)*
	sqv V	0	0	3 (1)	4	1	2	0	3	2	3	2	0	0	0
	new sqv	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (1)	0	0	0

strains number in parentheses causes pulmonary infection

\*strains from a patient with policlonal infection of *M. gordonae*

\*\*three strains from hospital environments

ている手洗い場水道水から1株が分離された。ちなみに上記2回の環境調査の結果、細菌検査室の備品、試薬から *M. gordonae* は分離されなかった。

16S rRNA 遺伝子解析：PCR反応は岩本らの方法<sup>9)</sup>に準じて行った。抽出したDNAをテンプレートとしTakara Ex Taq (タカラバイオ)を用いて、94℃ 30秒、55℃ 30秒、72℃ 1分を35サイクル行った。16S rRNA 遺伝子の超可変部AとBを含む領域をプライマー 285F [5'-GAG AGT TTG ATC CTG GCT CAG-3']と264R [5'-TGC ACA CAG GCC ACA AGG GA-3']を用いてPCR増幅産物を得た。PCR産物を精製した後BigDye Terminator Ready Reaction Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems Japan)を用いて16S rRNA 遺伝子の部分配列を得た。得られた塩基配列は、Ribosomal Differentiation of Microorganisms: RIDOMを用いて相同性検索を行い、菌種決定をした。

*Hsp65*PRA解析：Telentiらの方法<sup>7)</sup>に準じて行った。Tb11 [5'-ACC AAC GAT GGT GTG TCC AT-3']とTb12 [5'-CTT GTC GAA CCG CAT ACC CT-3']のプライマーを用い、95℃ 1分の熱変性の後、96℃ 40秒、60℃ 50秒、72℃ 1分を45サイクル行い、最後に72℃ 7分間伸張した。得られたPCR増幅産物の *Bst*E II 切断断片長 (60℃, 60分処理) および *Hae* III 切断断片長 (37℃, 60分) を制限酵素失活処理後マイクロキャピラリー電気泳動装置Agilent 2100 bioanalyzer (Agilent Technologies社)を用いて解析した。

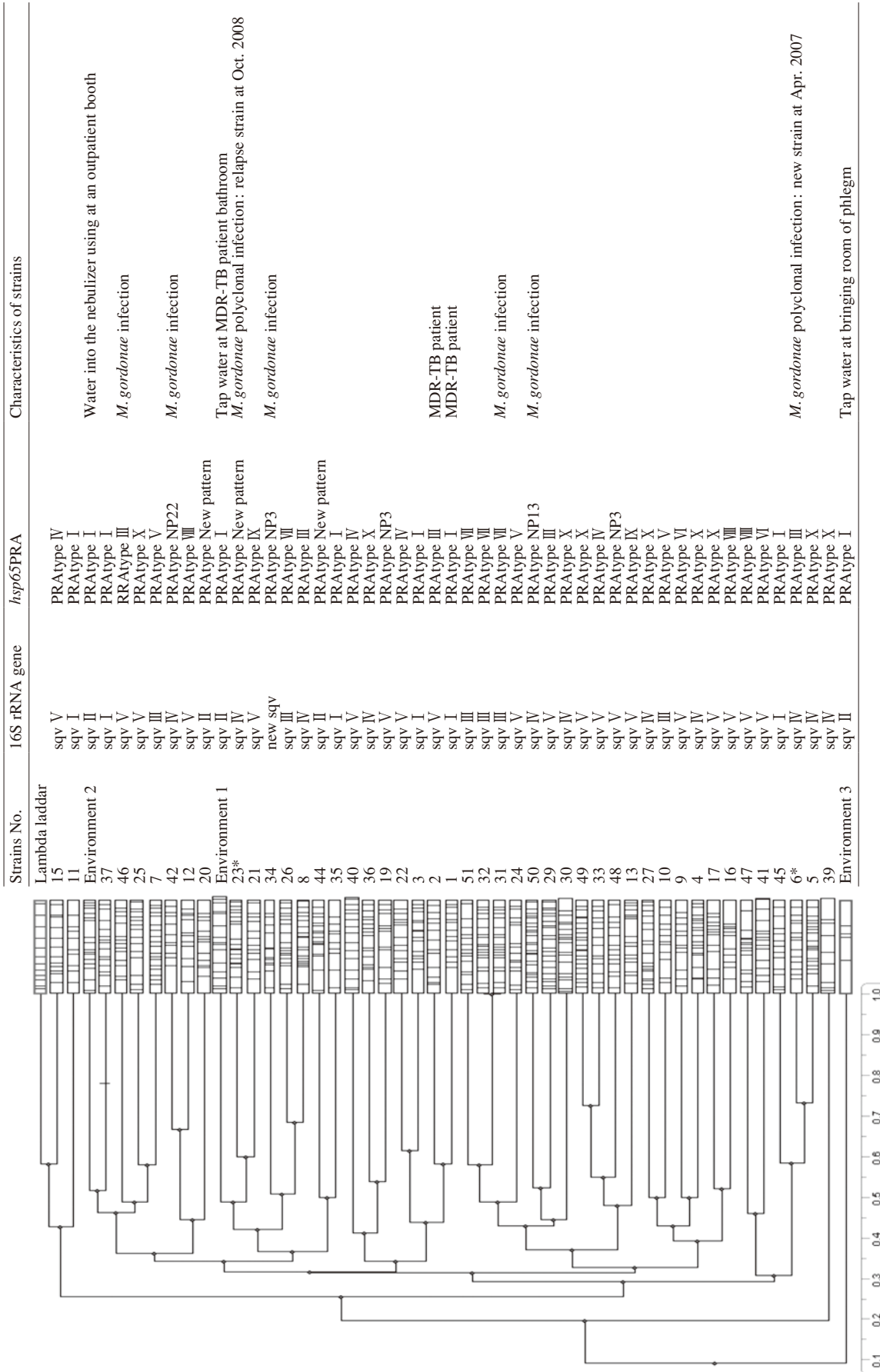
PFGE解析：抗酸菌の集団感染の解析においてPFGEは有用である。今回吉田らの方法<sup>10)</sup>に準拠して制限酵素 *Dra* Iを用いて実施し、得られた泳動像をPhoretix 1D Pro (Nonlinear Dynamics社)を用いてゲルイメージ解析処理し、Phoretix 1D Database (Nonlinear Dynamics社)にて系統樹を作成した。得られた結果はTenoverらのPFGE電気泳動パターンの評価基準<sup>11)</sup>を用いて疫学的評価を行った。

## 結 果

16S rRNA 遺伝子：供試された49株のうち6株の塩基配列は *M. gordonae* DSM44160基準株と100%一致しsqv Iに分類された。5株は *M. gordonae* DSM43212株と100%一致しsqv IIと分類され、そのうち3株は環境分離株であった。sqv IIIに分類された6株のうち5株は *M. gordonae* Borste 11340/99と1塩基の違いが見られた。さらに11株がsqv IVに分類され、この中には解析期間中に再発した *M. gordonae* 症患者からの初発時と再発時の株が含まれていた。この患者からの初発時の株は *M. gordonae* Borste 10681/99と100%一致したが、1年7カ月後に再発した時の分離株では1塩基の違いが見られた。20株は *M. gordonae* Borste 9411/99と100%一致しsqv Vに分類された。1株はsqv Vと5塩基の違いを認め、new sqvとした。また *M. gordonae* 症由来7株の内訳はsqv III 1株 (1塩基違い)、sqv IV 4株 (1株のみ1塩基違い)、sqv V 1株、new sqv 1株となった。

*Hsp65*PRA解析：*M. gordonae*における *hsp65*PRA パターンはPRANET ([http:// app.chuv.ch/pls/pranet](http://app.chuv.ch/pls/pranet))と従来の報告<sup>7)12)~16)</sup>から決定した。今回、*hsp65*PRAのタイプIIに属する菌株は検出されなかったが、従来報告されていないタイプ (new pattern) を含む13種類のタイプに分類された。*M. gordonae* 症由来7株の *hsp65*PRAタイプはタイプIIIが2株、タイプVII、タイプNP3、タイプNP13、タイプNP22、new patternが各1株という結果となり、再発患者からの初発時分離株はタイプIII、再発時分離株はnew patternと分類された。*Hsp65*PRAのタイプと16S rRNAのsqvとの比較では、sqv Iの6株はDSM44160と同一の *hsp65*PRAタイプIと分類された。sqv IIの臨床分離株2株は *hsp65*PRAタイプnew patternとなり、一方環境分離株3株は *hsp65*PRAタイプIと分類された。Sqv IIIの6株はタイプVとタイプVIIに分類され、sqv IV、sqv Vは順に5種類と8種類のPRAタイプを示し、多型性が見られた (Table 1)。

PFGE解析：供試菌49株から得られたPFGEパターン



**Fig.** Dendrogram based on computer-assisted comparison of the 49 PFGE pattern with genotype in 16S rRNA and *isp65PRA*. The positions of Lambda ladder size marker are indicated on the top. \*strains from a patient with polyclonal infection of *M. gordonae*

のうち sqv III, *hsp65PRA* タイプ VII である臨床分離株 2 株 (No.31とNo.32)のパターンが一致した。そのほかに、同じ *M. gordonae* 症患者から分離された 2 株を含む 47 株間で一致するパターンは認められなかった (Fig.)。

### 考 察

非結核性抗酸菌は自然界のみならず医療施設の環境にも広範囲に分布している<sup>17)18)</sup>。*M. gordonae* の院内における環境汚染の報告では、患者と接触する機会の多い気管支鏡<sup>19)</sup>や、水道水<sup>20)</sup>、冷却水槽<sup>21)</sup>に汚染源が見つまっている。したがって感染対策上、初歩的な衛生管理の不手際による院内感染で易感染性患者が犠牲にならないように、院内感染対策活動での監視を強化し継続することは最も重要である。また院内において非結核性抗酸菌の汚染と思われる事例が発生した場合、疑似アウトブレイクの可能性を考慮し、汚染源から分離された菌と臨床検体からの分離株との遺伝子型の異同を検証することが求められる。今回 *M. gordonae* 3 株が院内の水回り環境に存在することが認められたが、これらの環境分離株は臨床分離株とは異なった PFGE パターンを有していた (Fig)。また院内では患者に対して採痰時に水道水を用いたうがいの指導は行っていないため、あらゆる環境に生息しているであろう *M. gordonae* を起因とする検体採取時の検体への混入も考えにくい。したがって院内における疑似アウトブレイクの可能性は低いと考えられた。

1993年、スウェーデンの Telenti らにより遺伝子内の抗酸菌特異的部点を PRA 法で分別し遺伝子内の多様性の違いから同定する方法が報告され、5 種類の *M. gordonae* の菌種内変異が分別可能となった<sup>7)</sup>。彼らは 1992 年に収集した臨床分離株の 38% が *hsp65PRA* タイプ I で

あったと報告している<sup>7)</sup>。以降、多数の研究データが蓄積され、1996年にはアメリカの Taylor らによって 13 株中 11 株 (84.6%) がタイプ I であったとする結果が報告され<sup>12)</sup>、2001年にはイタリアの Brunello らにより *M. gordonae* のタイプ II が 50% と最も多く分布していたと報告された<sup>13)</sup>。同時期ブラジルから 2 つの報告があり、Suffys らはタイプ I が 17.6%、タイプ III が 35.2%<sup>14)</sup> とし、Chimara らはタイプ I が 4.5%、タイプ III が 43.2%、他に 4 種類の新しいタイプ (X, NP3, NP13, NP22) が認められたという<sup>15)</sup>。続いて 2002 年、da Silva Rocha らはブラジルの 16 州から臨床分離株を集め大規模な解析を実施したところ、19 株中タイプ I が 4 株 (21.1%)、タイプ III が 5 株 (26.3%) 認められ、8 株 (42.1%) が新しい 3 種類のタイプとして認められたとしている<sup>16)</sup>。わが国では Itoh らが、1988~2001 年に集められた 34 株のうちタイプ IV が 26.4% と最も多く存在し次にタイプ III (23.5%) が続いたとしている<sup>6)</sup>。今回われわれの結果から、最も多かったタイプはタイプ I とタイプ X (各 18.4%) であり、次に III (10.2%)、タイプ IV と VII がそれぞれ 8.2% と続いた。残り 36.6% は新しいタイプを含む 8 種類のタイプに分類され、*hsp65PRA* タイプの高い多様性が認められた (Table 2)。これらの結果は、*M. gordonae* の地域的分布の差を反映しているのか、もしくは 1990 年代から 2000 年代後半にかけての *M. gordonae* の時間的な変動 (ダイナミクス) を表しているのか、今後、臨床分離株・環境分離株での遺伝子型別に関するデータが蓄積されることで、その臨床的意義・地域特異性などとの関連性が明確になることが期待される。

*M. gordonae* 症分離株は 16S rRNA 遺伝子解析によって sqv III, IV, V, New sqv に分類され、多様な菌種内変異

Table 2 Frequency of *hsp65PRA* types in *M. gordonae* strains from different geographic regions

<i>hsp65PRA</i> type	% PRA typing in geographic region							
	Sweden (1992) <sup>7)</sup> (n=24)	United States (1996) <sup>12)</sup> (n=13)	Italy (2001) <sup>13)</sup> (n=18)	Brazil (2001) <sup>14)</sup> (n=17)	Brazil (2001) <sup>15)</sup> (n=44)	Brazil (2002) <sup>16)</sup> (n=19)	Japan (1998-2001) <sup>6)</sup> (n=34)	Japan (2007-2009) (n=49)
I	38	84.6	27.8	17.6	4.5	21.1	17.6	18.4 <sup>a</sup>
II	17		50	5.9		5.3	5.9	
III	12		11.1	35.2	43.2	26.3	23.5	10.2
IV	21	7.7	11.1		4.6		26.4	8.2
V	12				2.3		11.8	6.1
VI		7.7						4.1
VII				5.9	6.8	5.3		8.2
VIII					6.8			6.1
IX								4.1
X					25			18.4
NP3					2.3			6.1
NP13					2.3			2
NP22					2.3			2
New Pattern				35.2		42.1	14.7	6.1

<sup>a</sup>three of nine strains were isolated from hospital environments.

が確認された。また *hsp65*PRA 解析でも 6 タイプに分かれ多様性を示した。しかし、肺非結核性抗酸菌の診断基準を満たさない臨床分離株が *M. gordonae* 症分離株と同じ sqv, *hsp65*PRA タイプをもっていたため、*M. gordonae* の遺伝子型の違いによるヒトへの病原性の違いを明確に説明することはできなかった。一方、今回分離された環境由来株の数は少ないが、すべて sqv II, *hsp65*PRA タイプ I と分類され、*M. gordonae* 症分離株を含む臨床分離株とは異なった遺伝子型を示した。Prince らは環境中に存在する非結核性抗酸菌 60 株を調査した結果、*M. gordonae* 21 株は数種類の遺伝子型に分類されたと報告している<sup>22)</sup>。今後、より多くの環境分離株を集積し検討することで、環境中の *M. gordonae* の分布多様性を明らかにし、環境からヒトに感染する際に優位な *M. gordonae* 菌が選択されるという仮説を証明できると考えている。

非結核性抗酸菌が臨床検体から分離された場合でも検体への混入や気道への一時的な迷入を否定できない。肺非結核性抗酸菌症の診断基準では検体が喀痰の場合、稀な菌種や環境から高頻度に分離される菌種 (*M. gordonae*, *M. chelonae* など) では、2 回以上の異なった検体での培養陽性を満たす必要があると定義されている<sup>8)</sup>。今回 *M. gordonae* 症と判定された患者 6 名 (13.3%) 以外の患者では細菌学的所見とともに画像上も *M. gordonae* 感染症を思わせる所見は認められなかった。今回の結果からも *M. gordonae* 症の診断には一層慎重な判断が必要であると考えられた。

PFGE パターンが一致した 2 株 (No.31, No.32) 由来の患者は入院時期が異なっており、患者背景、居住地にも違いが見られたことから患者間の接触歴は乏しいと思われる。1 名 (No.32) は肺非結核性抗酸菌症の診断基準を満たしていなかったことから、環境から偶発的に遺伝子を同じくする菌株が迷入し 1 名 (No.31) のみ発症に至った可能性が考えられた。しかし、その後同じパターンをもつ株が見受けられないため特に同菌株がヒトに感染しやすい株とも言い難く、今後、同菌株を発端とする真のアウトブレイクが発生する危険性是否定的である。

今回 6 名の *M. gordonae* 症患者のうち、再発した 1 名の患者から分離された菌株の 16S rRNA 遺伝子の塩基配列と *hsp65*PRA のタイプは、初発時と再発時で相違を認めた。さらに PFGE パターンでは 7 本以上のバンドの違いが見られ、初発菌株 (No.6) と再発菌株 (No.23) は異なる遺伝子型であると分類された (Fig)。したがって、同一患者における複数菌感染もしくは治療終了後に起こった外来性再感染の可能性が考えられた。MAC 症をはじめとした非結核性抗酸菌症の複数菌感染は免疫不全の患者はもちろん、免疫機能が正常なヒトでも決して稀

ではない。複数菌感染は非結核性抗酸菌症が難治である理由の一つと考えられている。今回の結論をさらに支持するため、現在、対象菌株を純化し得られたシングルコロニー間の遺伝子型を比較検討中である。

## 文 献

- 1) Barber TW, Craven DE, Farber HW: *Mycobacterium gordonae*: a possible opportunistic respiratory tract pathogen in patients with advanced human immunodeficiency virus, type 1 infection. *Chest*. 1991; 100: 716-720.
- 2) Lessnau KD, Milanese S, Talavera W: *Mycobacterium gordonae*: a treatable disease in HIV-positive patients. *Chest*. 1993; 104: 1779-1785.
- 3) 藤田結花, 松本博之, 藤兼俊明, 他: 健常成人女性に発症した *Mycobacterium gordonae* による肺感染症の 1 例. *結核*. 2000; 75: 369-374.
- 4) Weinberger M, Berg SL, Feuerstein IM, et al.: Disseminated infection with *Mycobacterium gordonae*: report of a case and critical review of the literature. *Clin Infect Dis*. 1992; 14: 1229-1239.
- 5) Kirschner P, Böttger EC: Microheterogeneity within rRNA of *Mycobacterium gordonae*. *J Clin Microbiol*. 1992; 30: 1049-1050.
- 6) Itoh S, Kazumi Y, Abe C, et al.: Heterogeneity of RNA polymerase Gene (*rpoB*) sequences of *Mycobacterium gordonae* clinical isolates identified with a DNA probe kit and by conventional methods. *J Clin Microbiol*. 2003; 41: 1656-1663.
- 7) Telenti A, Marchesi F, Balz M, et al.: Rapid identification of mycobacteria to the species level by polymerase chain reaction and restriction enzyme analysis. *J Clin Microbiol*. 1993; 31: 175-178.
- 8) 日本結核病学会非結核性抗酸菌症対策委員会, 日本呼吸器学会感染症・結核学術部会: 肺非結核性抗酸菌症診断に関する指針-2008年. *結核*. 2008; 83: 525-526.
- 9) 岩本朋忠, 中永和枝, 石井則久, 他: *Mycobacterium lentiflavum* の菌種内塩基配列変異に関する研究. *結核*. 2008; 83: 417-422.
- 10) 吉田志緒美, 鈴木克洋, 露口一成, 他: *Mycobacterium kansasii* 株における分子疫学的解明. *結核*. 2007; 82: 103-110.
- 11) Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, et al.: Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol*. 1995; 33: 2233-2239.
- 12) Taylor TB, Patterson C, Hale Y, et al.: Routine use of PCR-restriction fragment length polymorphism analysis for identification of mycobacteria growing in liquid media. *J Clin Microbiol*. 1997; 35: 79-85.
- 13) Brunello F, Ligozzi M, Cristelli E, et al.: Identification of 54 Mycobacterial Species by PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis of the *hsp65* Gene. *J Clin Microbiol*. 2001; 39: 2799-2806.

- 14) Suffys PN, da Silva Rocha A, de Oliveira M, et al.: Rapid Identification of Mycobacteria to the Species Level Using INNO-LiPA Mycobacteria, a Reverse Hybridization Assay. *J Clin Microbiol.* 2001 ; 39 : 4477-4482.
- 15) Chimara E, Ferrazoli L, Misuka Ueki SY, et al.: Reliable identification of mycobacterial species by PCR-restriction-enzyme analysis (PRA)-*hsp65* in a reference laboratory and elaboration of a sequence-based extended algorithm of PRA-*hsp65* patterns. *BMC Microbiol.* 2008 ; 8 : 48.
- 16) da Silva Rocha A, Werneck Barreto AM, Dias Campos CE, et al.: Novel allelic variants of Mycobacteria isolated in Brazil as determined by PCR-restriction enzyme analysis of *hsp65*. *J Clin Microbiol.* 2002 ; 40 : 4191-4196.
- 17) Vaerewijck MJM, Huys G, Palomino JC, et al.: Mycobacteria in drinking water distribution systems: ecology and significance for human health. *FEMS Microbiol Rev.* 2005 ; 29 : 911-934.
- 18) 吉田志緒美, 富田元久, 露口一成, 他: 病院内に設置された飲料水供給装置に起因する *Mycobacterium chelonae* による疑似アウトブレイク. *環境感染誌.* 2009 ; 24 : 109-112.
- 19) Gubler JG, Salfinger M, von Graevenitz A: Pseudoepidemic of nontuberculous mycobacteria due to a contaminated bronchoscope cleaning machine. Report of an outbreak and review of the literature. *Chest.* 1992 ; 101 : 1245-1249.
- 20) Stine TM, Harris AA, Levin S, et al.: A pseudoepidemic due to atypical Mycobacteria in a hospital water supply. *JAMA.* 1987 ; 258 : 809-811.
- 21) Lalonde V, Barbut F, Varnerot A, et al.: Pseudo-outbreak of *Mycobacterium gordonae* associated with water from refrigerated fountains. *J Hosp Infect.* 2001 ; 48 : 76-79.
- 22) Prince KA, Costa AR, Malaspina AC, et al.: Isolation of *Mycobacterium gordonae* from poultry slaughterhouse water in Sao Paulo State, Brazil. *Rev Argent. Microbiol.* 2005 ; 37 : 106-108.

————— Original Article —————

DETECTION OF MOLECULAR EPIDEMIOLOGY OF  
*MYCOBACTERIUM GORDONAE* ISOLATES

<sup>1</sup>Shiomi YOSHIDA, <sup>1</sup>Katsuhiro SUZUKI, <sup>4</sup>Tomotada IWAMOTO, <sup>1</sup>Kazunari TSUYUGUCHI,  
<sup>2</sup>Motohisa TOMITA, <sup>1</sup>Masaji OKADA, and <sup>3</sup>Mitsunori SAKATANI

**Abstract** [Objects] To analyze the molecular epidemiology of *Mycobacterium gordonae* strains from patients and environments in the hospital.

[Subjects] A total of 46 clinical strains were obtained from patients registered at the NHO Kinki-chuo Chest Medical Center and 3 strains from hospital environments.

[Methods] By using genetic data from the 16S rRNA gene and *hsp65*PRA, pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) assessment of their intraspecies variability and epidemiology was carried out.

[Results] Strains from six patients and environmental cultures exhibited the different genotypes of 16S rRNA gene sequencing and the *hsp65*PRA type. The PFGE analysis suggested no pseudo-outbreak and showed a polyclonal infection in one patient.

[Conclusion] These findings suggest that we should maintain

effective surveillance of environments in the hospital and continuously perform molecular epidemiological investigations for infection control of *M. gordonae*.

**Key words:** *Mycobacterium gordonae*, 16S rRNA gene sequence, *hsp65*PRA, PFGE, Polyclonal infection

<sup>1</sup>Clinical Research Center, <sup>2</sup>Department of Clinical Laboratory, <sup>3</sup>Department of Respiratory Medicine, National Hospital Organization Kinki-chuo Chest Medical Center; <sup>4</sup>Department of Microbiology, Kobe Institute of Health

Correspondence to: Shiomi Yoshida, Clinical Research Center, National Hospital Organization Kinki-chuo Chest Medical Center, 1180 Nagasone-cho, Kita-ku, Sakai-shi, Osaka 591-8555 Japan. (E-mail: dustin@kch.hosp.go.jp)