

20020090A

平成14年度厚生労働科学研究費補助金(厚生労働科学特別研究事業)

我が国におけるVREの分離状況および
遺伝子型に関する調査研究(H14-特別-19)

研究報告書

主任研究者 池 康嘉

平成14年度 厚生労働科学研究費補助金（厚生労働科学特別研究事業）

我が国におけるVREの分離状況および遺伝子型に関する調査研究 研究班 班員名簿

区 分	氏 名	所 属	職 名
主任研究者	池 康嘉	群馬大学大学院医学系研究科 生体防御機構学講座 細菌感染制御学、同 薬剤耐性菌実験施設	教授
分担研究者 (五十音順)	荒川 宜親	国立感染症研究所 細菌第二部	部長
	池 康嘉	群馬大学大学院医学系研究科 生体防御機構学講座 細菌感染制御学、同 薬剤耐性菌実験施設	教授
	芹川 武大	新潟大学大学院医歯学総合研究科 分子細胞医学専攻 遺伝子制御講座	助手
	長沢 光章	防衛医科大学校病院 検査部	技師
研究協力者 (順不同)	谷本 弘一	群馬大学 薬剤耐性菌実験施設	
	藤本 修平	群馬大学大学院医学系研究科 生体防御機構学講座 細菌感染制御学	
	富田 治芳	同上	
	野村 隆浩	同上	
	井上 貴子	同上	
	石綿 司	同上	
	浦部 優子	同上	
	麻 興華	(財)ヒューマンサイエンス振興財団	
	結城 篤	防衛医科大学校病院	
	大森 尚子	同上	
	古桑 美香	同上	

目 次

I. 総括研究報告

- 我が国におけるVREの分離状況および遺伝子型に関する調査研究 1
池 康嘉（群馬大学大学院医学系研究科 生体防御機構学講座 細菌感染制御学、
同 薬剤耐性菌実験施設）

II. 分担研究報告

1. 我が国におけるVREの分離状況および遺伝子型に関する調査研究 7
荒川 宜親（国立感染症研究所 細菌第二部）
池 康嘉（群馬大学大学院医学系研究科 生体防御機構学講座 細菌感染制御学、
同 薬剤耐性菌実験施設）
芹川 武大（新潟大学大学院医歯学総合研究科 分子細胞医学専攻 細胞機能講座
生殖医学病態解析学分野）
長沢 光章（防衛医科大学校病院 検査部）
2. *Enterococcus* 属の検査方法についての実態調査 36
長沢 光章（防衛医科大学校病院 検査部）
荒川 宜親（国立感染症研究所 細菌第二部）
池 康嘉（群馬大学大学院医学系研究科 生体防御機構学講座 細菌感染制御学、
同 薬剤耐性菌実験施設）

- III. 研究成果の刊行物・別刷 51

I. 総括研究報告書（平成14年度）

厚生労働科学研究費補助金（厚生労働科学特別研究事業）

14年度 総括研究報告書

我が国におけるVREの分離状況および遺伝子型に関する調査研究

主任研究者 池 康嘉（群馬大学大学院医学系研究科 生体防御機構学講座 細菌感染制御学、
同 薬剤耐性菌実験施設）

分担研究者（五十音順）

荒川 宜親（国立感染症研究所 細菌第二部）

池 康嘉（群馬大学大学院医学系研究科 生体防御機構学講座 細菌感染制御学、同 薬剤耐性
菌実験施設）

芹川 武大（新潟大学大学院医歯学総合研究科 分子細胞医学専攻 細胞機能講座 生殖医学病
態解析学分野）

長沢光章（防衛医科大学校病院 検査部）

研究協力者（順不同）

野村 隆浩¹、富田 治芳¹、藤本 修平¹、谷本 弘^{1,2}、井上 貴子¹、麻 興華³、結城 篤⁴、大
森 尚子⁴、古桑 美香⁴

¹ 群馬大学大学院医学系研究科 生体防御機構学講座 細菌感染制御学、² 群馬大学 医学部附属
薬剤耐性菌実験施設、³ (財)ヒューマンサイエンス振興財団、⁴ 防衛医科大学校病院

研究要旨

1. VRE の分離状況

VanA型またはVanB型VREは、回答のあった1,778施設のうち31施設（26医療施設、5検査
センター）（1.7%）で分離された。VRE型は、VanA型が14施設（12医療施設、2検査セン

ター)、VanB型が15施設(12医療施設、3検査センター)、VanAおよびVanB型が分離されたのは1医療施設、VanD型が1医療施設から、それぞれ分離された。VREが分離された全症例数は128例である。VanA型は71例(55%)、またはVanB型は56例(44%)、VanD型は1例(1%)から分離された。31施設のうち、1症例のみの施設は16施設(12医療施設、4検査センター)(53.3%)、2症例の施設は6施設(4医療施設、2検査センター)(20%)、3症例の施設は3医療施設(10%)であった。これらの3例以下の少数分離施設は、分離施設(31施設)のうち25施設(80.6%)であった。6症例以上の多数の分離症例のある施設は6施設で、それぞれ症例数は6、8、9、17、24および27の症例であった。

128例のうち、便以外の検査材料から分離された症例は54症例(42%)であった。その多く(31例、57.4%)は尿から分離され、次いで13例(14.1%)において痰または咽頭部から分離され、血液および髄液の分離例がそれぞれ1例あった。これらの便以外の検査材料からの分離例54例のうち、感染症新法により報告されているものは18例(42%)であった。また、128例のうち便保菌者は93例(73%)であった。VREが分離された31施設のうち、菌株が保存されていた19施設(17医療施設、2検査センター)から、合計81株のVREが分与された。菌株が分与された17医療施設のうち、8施設のVREは複数患者から分離された複数のVREであった。そのうち6施設(6/8(75%))それぞれの施設の分離株の全部または一部は、染色体DNAの遺伝子型および各種薬剤耐性値から、同一の株であることが推測された。

VREの多くは各種の薬剤に耐性の多剤耐性であった。分与された19施設の中で、9施設の18人から合計23株のVanA型VREが分離されていた。この中で、4施設、5人の患者から分離されたVanA型VREは、タイ産鶏肉由来VanA型VREと同じVanA型遺伝子構造をしていた。1施設で分離された*E. faecalis* VanA型VRE、2施設でそれぞれ分離された*E. faecalis* VanB型VREは、バンコマイシン(VCM)耐性遺伝子がフェロモン反応性高頻度接合伝達性プラスミド上に存在していた。

2. VRE検査体制

我が国の病院における *Enterococcus* 属の検査方法およびVRE検出のための検査方法について全国的なアンケート調査を行い、施設内で細菌検査を行っている1,018施設から回答が得られた。その結果、同定検査として、自動機器および簡易同定キットを使用している77%の施設で菌種まで鑑別が行われていた。薬剤感受性検査は、微量液体希釈法やKirby-Bauerディスク法によるNCCLS法が93%を占めていたが、一部の施設ではディスク拡散法に用いる寒天培地や培養時間などの培養条件の見直しが必要であった。薬剤感受性検査を実施する条件としては、臨床から依頼が無い場合は10%の施設で実施しておらず、臨床との連携が必要である。

VRE 検出のための便スクリーニング検査を実施している施設は 32%で、検査方法、経済負担などのコスト、培地の問題などが挙げられた。また、登録衛生検査所において VCM の長期投与など患者情報が重要であるが 63%で入手が不可能で、VRE のスクリーニングは検査依頼が無い場合は殆ど実施されていなかった。

A. 研究目的

世界各国の先進医療の行われる医療現場では、既に MRSA などの多剤耐性菌が蔓延し医療にとって大きな障害となりつつある。国によっては、これらの MRSA が大きな問題となっている。さらに、近年、ほぼ全ての抗菌薬に耐性を獲得した VRE の蔓延が医療現場において大きな問題となりつつあり、高度先進医療を実施する上で、大きな障害となっている。したがって、院内感染対策上、VRE の動向について特に重点的な監視と対策

が必要と指摘されている。

MRSA は海外や国内で既に広く蔓延し、術後感染や院内感染症の起因菌として、警戒されているが、VRE の分離状況は国外と国内において異なる。国外、特に米国において、1989 年の VRE 感染症の最初の報告以来予期せぬ速度で医療機関に広がり、現在、大学病院規模の 1 病院あたり年間約 400 株分離されている。国内における分離状況は、感染症法や院内感染対策サーベイランス事業への報告でも極めて稀となっている。日本はい

わゆる先進国では唯一 VRE が広がっていない国であり、VRE の拡散防御対策をとることのできる唯一の国である。

しかし最近、北九州市の一般民間医療施設での院内感染症と院内感染による保菌患者の多発が問題となっている。この事例から、日本の中小の病院において報告されていない VRE の保菌者が存在することが危惧される。VRE 保菌者は VRE 院内感染の原因となる。VRE は病原性は弱いものの、高度先進医療を実施する特定機能病院などに保菌者を介して侵入すると、易感染者に院内感染症をおこし、医療の実施に大きな支障をきたし、医療の安全性を確保することが困難となる。さらに、感染症治療により、医療費の更なる多額の負担を強いることになる。そのため、これらの病院への VRE の侵入と院内感染症を阻止する必要がある。VRE 感染症の防御及びその拡散防御のためには、VRE 保菌者の実態調査が必須である。VRE による感染症の患者のみを報告対象とした、感染症法では把握できない保菌者の実態調査を緊急に調査する必要性が生じている。

わが国の医療施設の臨床検査において、細

菌検査の実施体制実績、さらに VRE の分離、検査体制に関する実態は解っていない。

本研究では、わが国において有効な VRE 対策を講じる上で必要となる科学的根拠を確保するため、現時点での国内の医療施設および臨床検査センターにおける VRE の保菌者からの分離を含めた分離状況を調査し、臨床分離株の遺伝子型などを解析し、それらの由来などについて分析を行った。本研究では、臨床上特に問題となる VanA、VanB、VanD 型 VRE を中心に研究を行った。さらに全国の医療施設の VRE 検査体制についての調査を行った。

B. 研究方法

1. アンケート調査

1) アンケート対象

対象は、(社)日本臨床衛生検査技師会に所属している会員の 4,426 施設(病院および登録衛生検査所)。病院規模はベッド数 19 から 1,500 までの小規模から大規模病院が含まれている。「VRE 分離状況調査」とともに返信封筒を同封し郵送した。

2) 実施期間

平成14年10月10日に各施設長宛に送付し、平成14年11月30日までに回答を求めた。

2. アンケート結果

1) アンケート回収率

4,426施設に送付し、1,778施設(40.6%)より有効回答を得た。

2) 回答施設の経営形態

1,778施設の経営形態は、国立病院174施設(9.7%)、公立病院625施設(35.0%)、私立病院797施設(44.6%)、登録衛生検査所(企業含む)192施設(10.7%)であった。

C. 研究結果・考察・結論は、荒川・池・関川、長沢の個々の研究報告書にまとめた。

D. 倫理面への配慮

本研究は、各施設における検査方法を調査・集計したもので、特に個別の施設名等は公表せず、倫理面の問題は発生しない。

II. 分担研究報告書（平成14年度）

厚生労働科学研究費補助金（厚生労働科学特別研究事業）

14年度 分担研究報告書

我が国におけるVREの分離状況および遺伝子型に関する調査研究

主任研究者 池 康嘉（群馬大学大学院医学系研究科 生体防御機構学講座 細菌感染制御学、
同 薬剤耐性菌実験施設）

分担研究者（五十音順）

荒川 宜親（国立感染症研究所 細菌第二部）

池 康嘉（群馬大学大学院医学系研究科 生体防御機構学講座 細菌感染制御学、同 薬剤耐性
菌実験施設）

芹川 武大（新潟大学大学院医歯学総合研究科 分子細胞医学専攻 遺伝子制御講座）

長沢 光章（防衛医科大学校病院 検査部）

研究協力者（順不同）

富田 治芳¹、藤本 修平¹、谷本 弘一²、野村 隆浩¹、井上 貴子¹、麻 興華³

¹ 群馬大学大学院医学系研究科 生体防御機構学講座 細菌感染制御学、² 群馬大学 医学部附属
薬剤耐性菌実験施設、³ (財)ヒューマンサイエンス振興財団

研究要旨

VRE の分離状況および遺伝子型に関する調査研究

VanA型またはVanB型VREは、回答のあった1,778施設のうち31施設（26医療施設、5検査センター）（1.7%）で分離された。VRE型は、VanA型が14施設（12医療施設、2検査センター）、VanB型が15施設（12医療施設、3検査センター）、VanAおよびVanB型が分離されたのは1医療施設、VanD型が1医療施設から、それぞれ分離された。VREが分離された全症

例数は128例である。VanA型は71例（55%）、またはVanB型は56例（44%）、VanD型は1例（1%）から分離された。31施設のうち、1症例のみの施設は16施設（12医療施設、4検査センター）（53.3%）、2症例の施設は6施設（4医療施設、2検査センター）（20%）、3症例の施設は3医療施設（10%）であった。これらの3例以下の少数分離施設は、分離施設（31施設）のうち25施設（80.6%）であった。6症例以上の多数の分離症例のある施設は6施設（5医療施設、1検査センター）で、それぞれ症例数は6、8、9、17、24および27の症例であった。

128例のうち、便以外の検査材料から分離された症例は54症例（24%）であった。その多く（31例、57.4%）は尿から分離され、次いで13例（14.1%）において痰または咽頭部から分離され、血液および髄液の分離例がそれぞれ1例あった。これらの便以外の検査材料からの分離例54例のうち、感染症新法により報告されているものは18例（42%）であった。また、128例のうち便保菌者は93例（73%）であった。VREが分離された31施設のうち、菌株が保存されていた19施設（17医療施設、2検査センター）から、合計81株のVREが分与された。菌株が分与された17医療施設のうち、8施設のVREは複数患者から分離された複数のVREであった。そのうち6施設（6/8(75%)) それぞれの施設の分離株の全部または一部は、染色体DNAの遺伝子型および各種薬剤耐性値から、同一の株であることが推測された。

VREの多くは各種の薬剤に耐性の多剤耐性であった。分与された19施設の中で、9施設の18人から合計23株のVanA型VREが分離されていた。この中で4施設、5人の患者から分離されたVanA型VREは、タイ産鶏肉由来VanA型VREと同じVanA型遺伝子構造をしていた。1施設で分離された*E. faecalis* VanA型VRE、2施設でそれぞれ分離された*E. faecalis* VanB型VREは、バンコマイシン（VCM）耐性遺伝子がフェロモン反応性高頻度接合伝達性プラスミド上に存在していた。

A. 研究目的

VREの分離状況は国外と国内において異なる。国外、特に米国において、1989年の

VRE感染症の最初の報告以来予期せぬ速度で医療機関に広がり、現在、大学病院規模の1病院あたり年間約400株分離されている。

国内における分離状況は、感染症法や院内感染対策サーベイランス事業への報告でも極めて稀となっている。日本はいわゆる先進国では唯一 VRE が広がっていない国であり、VRE の拡散防御対策をとることのできる唯一の国である。

しかし最近、北九州市の一般民間医療施設での院内感染症と院内感染による保菌患者の多発が問題となっている。この事例から、日本の中小の病院において報告されていない VRE の保菌者が存在することが危惧される。VRE 保菌者は VRE 院内感染の原因となる。VRE は病原性は弱いものの、高度先進医療を実施する特定機能病院などに保菌者を介して侵入すると、易感染者に院内感染症をおこし、医療の実施に大きな支障をきたし、医療の安全性を確保することが困難となる。さらに、感染症治療により、医療費の更なる多額の負担を強いることになる。そのため、これらの病院への VRE の侵入と院内感染症を阻止する必要がある。VRE 感染症の防御及びその拡散防御のためには、VRE 保菌者の実態調査が必須である。VRE による感染症の患者のみを報告対象とした、感染症法で

は把握できない保菌者の実態調査を緊急に調査する必要性が生じている。

本研究では、わが国において有効な VRE 対策を講じる上で必要となる科学的根拠を確保するため、現時点での国内の医療施設および臨床検査センターにおける VRE の保菌者からの分離を含めた分離状況を調査し、臨床分離株の遺伝子型などを解析し、それらの由来などについて分析を行った。

B. 研究方法

1) アンケート調査

1) アンケート対象

対象は、(社)日本臨床衛生検査技師会に所属している会員の 4,426 施設(3,882 病院、544 登録衛生検査所)。病院規模はベッド数 19 から 1,500 までの小規模から大規模病院が含まれている。「VRE 分離状況調査」とともに返信封筒を同封し郵送した。

2) 実施期間

平成 14 年 10 月 10 日に各施設長宛に送付し、平成 14 年 11 月 30 日までに回答を求めた。

2) アンケート結果

1) アンケート回収率

4,426 施設に送付し、1,778 施設 (40.6%) より有効回答を得た。

2) 回答施設の経営形態

1,778 施設の経営形態は、国立病院 174 施設 (9.7%)、公立病院 625 施設 (35.0%)、私立病院 797 施設 (44.6%)、登録衛生検査所(企業含む) 192 施設 (10.7%) であった。

3) 細菌学的研究

材料および方法。

培地. VRE の培養は Todd Hewitt broth (THB)(Difco), および Todd Hewitt broth agar を用いた。

薬剤感受性は Mueller Hinton broth およびその寒天培地を用い, 寒天平板希釈法を用い NCCLS 標準法に従った。

PCR 方法 . Pulsed Field Gel Electrophoresis, Plasmid DNA の分離と解析. Agarose gel electrophoresis 等は概報の方法を用いた。

C. 研究結果 (表 1)、(図 1)

1) VRE の分離状況と地域

VRE 分離状況のアンケート調査を全国

4,426 医療施設および検査センターに依頼した 1,778 施設 (40.2%) から回答があった。回答があった 1,778 施設のうち 31 施設 (26 医療施設、5 検査センター) (1.7%) で VRE (VanA、VanB および VanD 型) が分離された。分離された VRE の型と施設は、VanA 型が 14 施設 (12 医療施設、2 検査センター)、VanB 型が 15 施設 (12 医療施設、3 検査センター)、VanA 型および VanB 型の両型が分離されたのは 1 医療施設、VanD 型が 1 医療施設からそれぞれ分離された。

2) VRE 分離された症例数 (表 1)

VRE が分離された症例数は、31 施設の合計 128 例の患者から分離された。そのうち VanA 型は 71 例 (55%) から、VanB 型は 56 例 (44%) から、VanD 型は 1 例 (1%) からそれぞれ分離された。

VRE が分離された全症例 128 例の中で、VanA 型は 71 例 (55%)、VanB 型は 56 例 (44%)、VanD 型は 1 例 (1%) から分離された。

31 施設のうち、1 症例のみの施設は 16 施設 (12 医療施設、4 検査センター)

(53.3%)、2 症例の施設は 6 施設 (4 医療施設、2 検査センター) (20%)、3 症例の施設は 3 医療施設 (10%) であった。これらの 3 症例以下の少数分離施設は、分離施設 (31 施設) のうち 25 施設 (80.6%) であった。6 症例以上の多数の分離症例のある施設は 6 施設 (5 医療施設、1 検査センター) で、それぞれ症例数は 6、8、9、17、24 および 27 の症例であった。

3) VRE の菌種 (表 1)

アンケート調査により、患者から分離された VRE の菌種が 86 症例において報告された。これらの菌種は *E. faecium* 41 例、*E. faecalis* 41 例、*E. avium* 3 例、*E. reffinosus* 1 例であった。

4) 患者の基礎疾患 (表 1、表 2)

128 例中、患者の基礎疾患が 72 例において報告された。それらは、脳血管障害または神経系疾患 20 例 (27.8%)、呼吸器系疾患 (肺炎、肺結核、肺癌等) 16 例 (22.2%)、白血病 7 例 (9.7%)、腎不全 4 例 (5.6%)、肝臓疾患 (肝癌、肝炎等) 4 例 (5.6%)、消化器疾患 (含む癌) 4 例 (5.6%)、胆嚢疾患 3 例 (4.1%)、心臓血管系疾患 3 例

(4.1%)、その他 9 例 (12.5%) であった。

5) VRE 保菌状態 (表 1)

128 症例中、VRE が分離された検査材料は、便以外の検査材料のみから分離された患者 35 例、便と便以外の検査材料から分離された患者 19 例、便のみから分離された患者 74 例である。便以外の検査材料から分離された合計 54 例のうち、感染症新法により報告されているものは 18 例 (33.3%) であった。VRE を便に保菌していた患者は 128 例中 93 例 (73%) であった。

6) VRE が分離された便以外の検査材料 (表 1、表 3)

各種検査材料から VRE が分離された 54 例の検査材料は、尿 31 例 (57.4%)、喀痰 9 例 (16.7%)、咽頭粘液 4 例 (7.4%)、膿 4 例 (7.4%)、尿および喀痰 3 例 (5.6%)、髄液 2 例 (3.7%)、血液および尿 1 例 (1.8%) であった。

7) VRE の薬剤耐性 (表 4)

VRE が分離された 31 施設の中で、19 施設から合計 81 株の VRE が分与された。19 施設の中で 8 施設では VanA 型 VRE、

9施設ではVanB型VRE、1施設ではVanA型およびVanB型VRE、1施設でVanD型VREが分離されていた。81株のVREのうち、VanB型は53株、VanA型は23株、VanD型1株でその他4株であった。VREの多くはゲンタマイシン、エリスロマイシン（マクロライド）、およびニューキノロン等に高度耐性で多剤耐性であった。また、*E. faecium*のVREの多くは、ペニシリン耐性（Apc）であった。同一施設で分離された複数のVREの多くは、各種の薬剤に対するMIC値が同一であり、その薬剤耐性型も同じであることが多かった。

8) VREの染色体DNA型(図2)

VREの染色体DNAを制限酵素 *Sma*I で処理後、Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE) を行い、*Sma*I DNA断片の電気泳動型を調べた(図1)。医療施設TSH(3株)、FOH(3株)、FMH(3株)およびOMH(3株)のそれぞれの病院の複数のVREは、それぞれ同一の患者由来のVREであり同じ泳動型であった。医療施設NML(2例)、IKL(2例)、

TTH(2例)、ONH(2例)およびGUH(2例)のVREは同一患者から異なる泳動型を示すVREが分離されていた。医療施設CRH(2例)、FYH(2例)、ARH(7例中5例と2例)、KMH(2例)、NKH(19例中18例)、およびAOH(15例中5例と10例)の病院分離株は、異なる患者由来であるが、それぞれの病院で同一泳動型、または一部異なるDNA断片を示すVREが分離されていた。多数分離例のあった病院NKHの19株中18株は同一泳動型であった。このことは、1種類のVREが院内感染に関連していたことが推測された。また、AOHでは、15例のうち5例および10例はそれぞれ同一泳動型であり、少なくとも2株のVREが院内感染に関連していたことが推測できる。

9) VanA型VREの *vanS* 遺伝子の構造(表5)

9施設から分与された合計23株のVanA型VREについて、それぞれの菌種とバンコマイシン(VCM)、テイコプラニン(TEIC)のMICを表5にまとめた。野生型VanA VREは元来、VCM、および

TEIC 高度耐性である。分離された VanA 型 VRE の中に、VCM 高度耐性で TEIC 耐性値が比較的 low 耐性の株が 8 株存在した。また、これらは医療施設の数で 9 施設中 4 施設において分離されていた。また、患者の数では 18 人（または 18 症例）中 5 例（約 30%）であった。これらの株の VanA 遺伝子（群）のセンサー遺伝子 *vanS* 遺伝子構造を調べた結果、これらの株はすべて *vanS* 遺伝子の同じ 3ヶ所が野生型 VRE の *vanS* 遺伝子と異なっていた。

10) バンコマイシン (VCM) 耐性の接合伝達性 (表 6)

81 株の VCM 耐性菌を供与菌として、VCM 耐性の接合伝達性を調べた。用いた受容菌は *E. faecalis* FA2-2 (Rif^r, Fus^r)、および *E. faecium* BMRF (Rif^r, Fus^r) である。接合実験は、固形培地上の接合実験と液体培地中での接合実験を行った。

(1) VCM 耐性 *E. faecalis* の接合伝達性

施設 (OMH) の同一患者から分離された VanA 型 *E. faecalis* 菌 3 株それぞれの VCM 耐性が、液体培地中お

よび固形培地上の接合伝達実験で、受容菌 *E. faecalis* FA2-2 に高頻度に接合伝達された。

FKH 施設で分離された *E. faecalis* VanB 型 VRE 2 株、および NKH 施設で分離された *E. faecalis* VanB 型 VRE 19 株それぞれの VCM 耐性が液体培地中で受容菌 *E. faecalis* に接合伝達された。また、これらの株の VCM 耐性は、固形培地上の接合で高頻度に接合伝達された。

(2) VCM 耐性 *E. faecium* の VCM 耐性の接合伝達性

CRH 施設の VanA 型 VRE の 2 株、TTH 施設の VanA 型 VRE 1 株の VCM 耐性それぞれが固形培地上の接合伝達実験で *E. faecium* 受容菌に高頻度 (受容菌当り 10^{-3}) に接合伝達された。その他の VanA 型 VRE および VanB 型 VRE において、VCM 耐性が固形培地上の接合伝達実験で、低頻度で (供与菌当り $10^{-6} \sim 10^{-7}$) で受容菌に接合伝達される株が存在した。

11) *E. faecalis* のフェロモン反応性高頻度

接合伝達性プラスミドと VCM 耐性 (別添論文)

VanA および VanB 型 *E. faecalis* で、それぞれの株の VCM 耐性が受容菌 *E. faecalis* FA2-2 に液体培地中で高頻度に接合伝達された株について、それぞれの株の *E. faecalis* VCM 耐性接合伝達のフェロモン (*E. faecalis* FA2-2 の培養上清) に対する反応性を調べた。その結果、それぞれの接合伝達株はフェロモンと培養することにより凝集塊を形成した。これは、これらの株の VCM 耐性がフェロモン反応性高頻度接合伝達性プラスミド上に存在することを示している。

医療施設 NKH の VanB 型 *E. faecalis* 19 株の *E. faecalis* FA2-2 VCM 耐性接合伝達株、それぞれのプラスミド DNA の *EcoRI* 断片のアガロースゲル電気泳動型を調べた。その結果、すべての株のプラスミド DNA は同一泳動型であった。代表株を選び、そのプラスミドの遺伝子のフェロモンに対する反応性およびフェロモン反応遺伝子等の解析を行った。結果は、別の報告書にまとめ本報告書に添付した。

D. 考察

今回の調査研究で対象とした 4,426 医療施設は、bed 数約 19 床の小規模病院から、bed 数 1,500 床の大規模病院までの病院を含んでいる。そのうち 1,788 施設 (40.2%) から回答があり、多くの施設からの情報が得られた。1,788 施設のうち VRE が分離された施設は 31 施設 (1.7%) であった。そしてこれらの施設の所在地は、全国の 16 都府県に分散しており、ある特定の地域に VRE 分離施設が偏って存在している状態ではなかった。

31 施設の各施設における VRE が検出された患者数は、1 症例のみが 16 施設 (53.3%)、2 症例が 6 施設 (20%)、3 症例が 3 施設 (10%) と、多くの病院 (25 施設 (80.6%)) において 1~3 症例までの単発的な症例からの分離であり、VRE による院内感染の広がりが多数の病院でおきている状態ではないと推測された。また、VRE が分与された 16 施設 76 株の VRE の各種薬剤耐性、染色体 DNA の Pulsed field gel electrophoresis から、1 施設当り

数例の分離例の施設の多くは、院内感染がおきていないと推測された。これらの結果から、日本の病院または医療関連施設において VRE が日常的に分離される状態ではないことが推測される。このことは、今後とも日本において VRE の監視体制を充分行うことにより、VRE の拡散防止および感染防御体制がとれることを示している。しかしながら、31 の施設の中で 6 施設 (5 医療施設、1 検査センター(19%)) において、それぞれ 6、8、9、17、24 および 27 例の比較的多数の VRE が分離されていた。このことから VRE は急速に院内感染で広がる危険性を示しており、VRE の早期発見と院内感染防止に十分な警戒が必要である。

多数分離例において、異なる地域の 1 病院において VanA 型 VRE、2 病院において VanB 型 VRE が比較的短期間に 9 例と 10 例以上それぞれ分離されていた。このうち VanB 型 VRE が分離されたそれぞれの施設の VRE は、薬剤耐性 Pulsed field gel electrophoresis から、1 施設では 1 種類の VRE が、他の施設では 2 種類の

VRE が院内感染で広がったものと推測された。また、これらの株は多くの患者の便からも分離されていた。このことは、VRE は急速に病院内に広がり、院内感染症が広がりやすい菌であることを示している。また、VRE または VRE のある種の株は、容易に患者の腸管に定着しやすい菌であることが推測される。このことから、次のような VRE による院内感染経路の一つが推測される。1 人の VRE 感染者または腸管保菌者から院内感染により他の患者の腸管に経口的に侵入し、定着する。同様に、多くの患者の腸管に次々と定着する。患者の腸管に定着し、便に含まれる VRE により病院環境が広く汚染され、さらに院内感染を広げる。VRE が腸管に定着し、VRE 保菌状態になった易感染者は、自己の VRE による血液感染、術後感染、尿路感染症等をおこす危険性が高まる。

VRE は院内感染により最初に腸管に定着し、定着した VRE により易感染者が自己感染をおこすことが推測される。このことから VRE 感染制御には、VRE 保菌状態を調べるための、便のスクリーニング検査

が必須である。特に VRE 分離が単発または少数例の VRE 発見の初期に VRE が分離された患者と同室患者、またはその患者が所属する病棟の他の患者の VRE のスクリーニング検査を行う必要がある。また、VRE 保菌患者の何らかの届出制度が必要であり、保菌患者担当の医療スタッフは情報を共有し、院内感染防止に努めなければならない。

分担研究者の長沢等の VRE 検査実態に関する調査によると、VRE 検出のための便の VRE の何らかのスクリーニング検査を行っている施設は、回答のあった 991 施設中 317 施設 (32%) の少数であった。この結果から、VRE 院内感染防止のために VRE の便保菌者の早期発見の重要性が認識されていないことが推測される。このため、VRE 検出のための便のスクリーニング検査体制の充実が必要である。

VRE が分離された患者の基礎疾患は、いずれも重症の疾患であり、比較的長期入院の状態であること、抗菌剤投与を受けていることが推測された。VRE が分離された検査材料は、VRE でない腸球菌と同様、

尿からの分離例が一番多かった。しかしながら、髄液や血液からの分離例も報告されており、重症感染症がおきている可能性も推測された。

VRE の型別は、31 施設のうち VanA 型が 14 施設、VanB 型が 15 施設、VanA 型と VanB 型および VanD 型がそれぞれ 1 施設から分離された。128 症例のうち、VanA 型は 71 症例 (55%) から、VanB 型は 56 症例 (44%) から分離された。欧米、特に米国においては、臨床分離 VRE のほとんど (90%以上) は VanA 型 VRE であり、日本の VRE において VanB 型 VRE の分離頻度が比較的高いことが特徴である。報告のあった 86 症例の VRE の菌種は *E. faecium* 41 例、*E. faecalis* 41 例、*E. avium* 3 例、*E. raffinosus* 1 例から分離されていた。これまでの欧米における臨床分離 VRE は、*E. faecium* が一般的であり、特に米国における VanA 型 VRE は 90%以上が *E. faecium* である。これに対して、日本の VRE は *E. faecium* と *E. faecalis* がほぼ同じ頻度で分離されることが特徴である。