

表1 16株のPRGBSのペニシリンGのMIC、PRGBSのPBP2X遺伝子におけるアミノ酸変異、オキサシリン、セフチゾキシム、セフチブテンの各ディスクの増殖阻止円の直径

菌株	ペニシリンG のMICs	PBP2X 遺伝子におけるアミノ酸変異	増殖阻止円の直径 [mm]		
			オキサシ リン	セフチゾ キシム	セフチブ テン
B1	0.5	M349I, I377V, F399I, P445S, T555S, Q557E	13	7	6
B6	0.25	E411K, T555S, Q557E	12	15	6
B7	0.25	I377V, T394A, G398A	16	22	6
B8	0.25	I377V, F395L, P396T, V405A, R433H, H438Y, G648A	16	17	6
B10	0.5	G526R, Q557E, S726L	15	16	7
B12	0.25	G526R, Q557E, S726L	14	19	6
B40	0.5	P396S, G526R, Q557E, S726L	11	20	6
B60	0.25	I377V, T394A, G398A, Q557E	16	22	6
B68	0.5	A514V, Q557E	18	28	10
B502	0.5	I377V, F395L, V405A, R433H, H438Y, G648A	12	18	6
B503	0.25	I377V, F395L, V405A, R433H, H438Y, G648A	20	24	6
B513	1	A400V, V405A, Q557E	7	17	6
B514	0.25	I377V, F395L, V405A, R433H, H438Y, G648A	12	19	6
B516	0.25	I377V, F395L, V405A, R433H, H438Y, G648A	17	18	6
M16	0.5	A514V, Q557E	12	31	19
M19	0.25	I377V, F395L, V405A, R433H, H438Y, G648A	12	20	6

表2 PRGBS 検出に有効な KB ディスクをスクリーニングした際に用いた KB ディスク

penicillin G (10 u)	cefpiramide (75 µg)	cefixime (5 µg)
oxacillin (1 µg)	ceftazidime (30 µg)	ceftibuten (30 µg)
ampicillin (10 µg)	ceftriaxone (30 µg)	cefdinir (5 µg)
amoxicillin (25 µg)	cefodizime (30 µg)	cefpodoxime (10 µg)
aspoxicillin (100 µg)	cefpirome (30 µg)	cefteram (10 µg)
piperacillin (100 µg)	cefepime (30 µg)	cefcapene (5 µg)
cephalothin (30 µg)	cefzopran (30 µg)	cefditoren (5 µg)
cefazolin (30 µg)	cefsulodin (30 µg)	latamoxef (30 µg)
cefamandole (30 µg)	cefoxitin (30 µg)	flomoxef (30 µg)
cefotiam (30 µg)	cefmetazole (30 µg)	imipenem (10 µg)
cefoperazone (75 µg)	cefotetan (30 µg)	panipenem (10 µg)
cefuroxime (30 µg)	cefbuperazone (75 µg)	meropenem (10 µg)
cefotaxime (30 µg)	cefminox (30 µg)	aztreonam (30 µg)
ceftizoxime (30 µg)	cephalexin (30 µg)	carumonam (30 µg)
cefmenoxime (30 µg)	cefaclor (30 µg)	

Figure 1

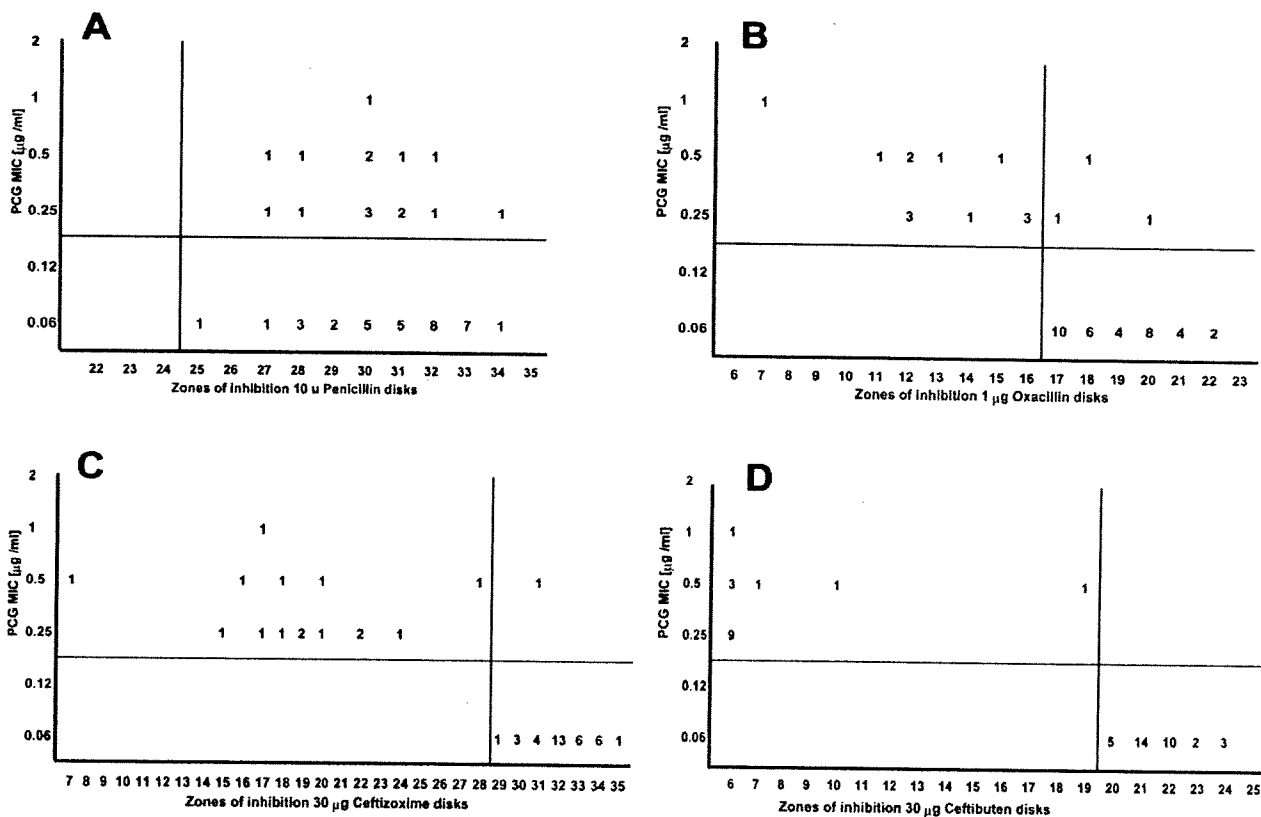


図1 ディスク拡散法での増殖阻止円の直径 (横軸) と平板希釈法で測定したペニシリンGのMIC (縦軸) の関係

図中の数字は菌株数、
 ペニシリンGディスク (図1A)、オキサシリンディスク (図1B)、セフチゾキシムディスク (図1C)、セフチブテンディスク (図1D)をそれぞれ用いた。

分子疫学的解析による、ペニシリン低感受性 B 群レンサ球菌(PRGBS)の 持続的感染能力の獲得の可能性についての確認

研究分担者 荒川 宜親 国立感染症研究所 細菌第二部 部長

研究要旨

50 歳代男性の仙骨部の重篤な褥創から 3 週間の間隔で優位数検出された 2 株のペニシリン低感受性株(PRGBS)は、いずれも血清型 Ia で、PCG 及び ABPC の MIC は 0.25 $\mu\text{g/ml}$ 、CTX の MIC が 1 $\mu\text{g/ml}$ であった。また、PFGE プロファイルが一致し、MLST で ST-1 (allelic profile 1121122) と同定されたことから 2 株の PRGBS は遺伝的に同一であることが確認された。これら 2 株は PBP2X にペニシリン低感受性を担うキー置換である V405A を共有していた。さらに 3 つの置換 G398A, G329V 及び G429D を共有していたが、これらの中で G329V と G429D は PRGBS で新規に認められた置換であった。本症例の解析から、PRGBS は、感染部位に一過性ではなく、一定期間、持続的に感染し続ける能力を獲得していることがはじめて確認された。しかし、PRGBS 株の β -ラクタム薬による治療への抵抗性や患者予後に及ぼす影響等、臨床的意義についてはいまだ不明であり、特に新生児並びに高齢者における敗血症や髄膜炎では的確な治療戦略について、引き続き、臨床データの蓄積が必要である。

研究協力者

長野則之(国立感染症研究所 細菌第二部)
木村幸司(同上)
長野由紀子(同上)
薬丸洋秋(船橋市立医療センター 形成外科)

存されていることを明らかにしている。これらの PRGBS 株は殆どが呼吸器材料から分離されてきている。本研究では仙骨褥創から反復して PRGBS が検出された症例を提示し、さらにこれら PRGBS 株の分子学的特性について報告する。

A. 研究目的

B 群レンサ球菌(GBS)については感染症の治療や分娩時予防投与においてペニシリンが第一選択薬となっているが、これは本抗菌薬に対する耐性がこれまで GBS 臨床分離株で報告されていない理由による。しかしながら我々は最近ペニシリン低感受性 GBS 株(PRGBS)の存在について報告し、ペニシリン結合蛋白(PBP)2X の変異が β -ラクタム剤に対する感受性の低下に主要な役割を果たしていることを立証している。我々はさらにこれら PRGBS の株間で PBP 遺伝子の変異に多様性が認められること、それに対してペニシリン感受性株では分離年度に関係なく PBP 遺伝子が高度に保

B. 研究方法

症例及び菌株: 症例は 58 歳男性で一年半前に船橋市立医療センターにて Stanford B 型解離性大動脈瘤に対する下行性グラフト置換術が施された。術後麻痺が発生し、腋窩大腿動脈バイパス手術の後も改善は認められなかった。患者はその後リハビリテーションの目的で専門のセンターに転院となった。長期にわたるリハビリテーション入院の期間中重篤な褥創が仙骨部に発生し出血も見られたため当センターへ転院となった。患者は当センター入院 3 日前に熱発のため 1 日のみピペラシリンの静注投与(2000 mg/day)を受けたことを除いて 3 ヶ月以上の間抗菌薬の投与を受けていなかった。初

診時に褥創の表面より採取された材料から優位数の GBS 及び少数の G 群レンサ球菌と *Proteus mirabilis* が検出された。その後初診から 22 日後の入院時に採取された材料では GBS が G 群レンサ球菌と共に優位数検出され、次いで少数の *Staphylococcus aureus* が検出された。第 6 病日にデブリードマン、rotation flap による褥創閉鎖手術が施された。手術当日から 4 日間セファゾリン (2000 mg/day) 投与後は、術後の瘻孔浸出液から *S. aureus* のみが検出された。初診時及び入院時に検出された GBS 2 株を以降の解析に用いた。

MIC 測定: MIC は MicroScan MICroFAST 3J パネル (Siemens) を用い、CLSI の微量液体希釈法により測定した。測定における精度管理菌株として *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 を用いた。

血清型別: 型特異莢膜多糖体抗原の型別には Ia、Ib、II、III、IV、V、VI、VIII の抗血清 (Denka Seiken) を使用した。

PFGE 解析: 制限酵素 *Apal* 消化 DNA の PFGE 解析には CHEF Mapper system DR-III (BioRad) を用いた。

MLST 解析: MLST は既報に従い実施した。7 種のハウスキーピング遺伝子 *adhP*, *pheS*, *atr*, *glnA*, *sdhA*, *glcK*, *tkl* の PCR 増幅は PrimeSTAR HS DNA polymerase (Takara Shuzo Co) を用い、以下の反応条件で実施した: 98°C、1 分を 1 サイクル、98°C、10 秒、55°C、15 秒、72°C、1 分を 30 サイクル、最後に 72°C、7 分を 1 サイクル。得られた PCR 産物を精製後シーケンス解析した。Allelic profile 解析及びシーケンスタイプ (ST) の同定は group B streptococcus MLST databases (<http://pubmlst.org/sagalactiae>) により行った。

***pbp2x* のシーケンス解析:** *pbp2x* の塩基配列は BigDye X Terminator purification kit を用いて PCR 増幅フラグメントを精製した後、ABI PRISM 3130xl Genetic Analyzer により決定した。得られた塩基配列及び推定アミノ酸配列 (GenBank accession number AB512415) と参照株とした 2603 V/R の相応配列 (ATCC BAA-611; GenBank accession number NC 004116) との比較解析を行った。

(倫理面への配慮)

本研究は、日常診療の過程で分離された臨床分株を用いた解析であり、ヒト由来の臨床材料を使用しない。また、菌が分離された患者の診療情報を参考情報として扱うが、その情報自体は研究や分析の対象とはなっておらず、カルテ等の既存の記録から抽出したものであるが、その情報を扱うこと自体については、船橋市立医療センター倫理規定に従い当該患者より承諾を得ている。したがって、倫理上特段の問題点は発生しない。

C. 結果

本症例で間隔をおいて検出された血清型 Ia の GBS に対するペニシリンの MIC が 0.25 µg/mL を示し、PRGBS 株と判定された。本株に対するアンピシリン、セフトキシムの MIC は、各々 0.25 µg/mL、1 µg/mL であった (Table 1)。これら 2 株の *Apal* 消化 DNA の PFGE プロファイルは同一であった (Fig. 1)。MLST 解析の結果本症例の PRGBS は 2 株共に allelic profile 1121122 を示し ST-1 に属すると判定された。

2 株の PRGBS 株はいずれもアミノ酸置換 V405A を共有していた。さらにこれらの分離株は 3 つの置換 G398A, G329V 及び G429D を共有していた。

以上の結果から、期間をあけて同一患者の褥瘡部位から分離された 2 株の PRGBS は、遺伝的に同一である事が確認された。

D. 考察

本症例では PRGBS が混合感染症の起原菌として褥創から継続的に優位数分離されていたことから、3 週間以上にわたって感染部位に持続的に生存し得ることが見出された。これらの PRGBS 株は MLST 解析により ST-1 と同定されたが、このタイプは血清型 V を主体とする種々の血清型で構成される異種性の遺伝系統で保菌株と侵襲株の両方に認められている。また PFGE プロファイルも一致したことからこれらの株が遺伝的に同一であることが認められた。このことから、PRGBS 株が出現したり PRGBS 株を獲得した場合、一過性ではなく、一定

期間、患者の患部に感染し続ける能力を有する事が確認され、PRGBS は、持続性感染症や患者間の伝播による院内感染の起因菌となりうる事が示唆された。

PRGBS 株はアミノ酸置換 V405A を共有していたが、この置換は Q557E と共に PBP2X においてペニシリン低感受性を担うキー置換であることを我々は見出している。さらに3つの置換が確認されたが、これらの中でG398Aは我々の先の研究で報告したが、G329V 及び G429D の2つの置換はPRGBSにおいて新規に認められた置換であった。G429D は *Streptococcus pneumoniae* におけるG422D に相応していることから *S. pneumoniae* において示唆されているように補償的な変異である可能性が考えられる。

PRGBS の *in vitro* でのペニシリン耐性が抗菌薬治療における臨床的有意性を予測し得るか否かについてはいまだ不明である。実際に当該症例では cefazolin 投与後に PRGBS が除菌されたが、特に新生児並びに高齢者における敗血症や髄膜炎では的確な治療戦略についての臨床データの蓄積が必須であろう。

E. 結論

PRGBS が感染部位に持続的に一定期間、生存し得る能力を保持していることが確認された。古の事は、同時に PRGBS が患者間で伝播拡散する能力を保持している事も示唆するため、今後、院内感染の起因菌としても監視して行く必要がある。ただし、PRGBS 株の β -ラクタム薬による治療への抵抗性や患者予後に及ぼす影響等、臨床的意義についてはいまだ不明であり、特に新生児並びに高

齢者における敗血症や髄膜炎では的確な治療戦略についての臨床データの蓄積が必要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文(雑誌)発表:

Noriyuki Nagano, Kouji Kimura, Yukiko Nagano, Hiroaki Yakumaru, and Yoshichika Arakawa. Molecular characterization of group B streptococci with reduced penicillin susceptibility recurrently isolated from a sacral decubitus ulcer. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 64: 1326-1328, 2009.

2. 学会発表:

- 1) 長野則之, 木村幸司, 長野由紀子, 薬丸洋秋, 荒川宜親: 仙骨褥創より分離されたペニシリン低感受性 B 群レンサ球菌の分子学的特性. 第38回薬剤耐性菌研究会, 平成21年11月, 伊香保
- 2) 長野則之, 長野由紀子, 木村幸司, 荒川宜親: 仙骨褥創より分離されたペニシリン低感受性 B 群レンサ球菌の分子学的特性. 第21回日本臨床微生物学会総会, 平成22年1月, 東京

H. 知的所有権の出願・登録状況

1. 特許取得: なし
2. 実用新案登録: なし
3. その他: なし

Table 1. MICs of PRGBS isolates

Antimicrobial agents	MIC ($\mu\text{g/ml}$)
Penicillin	0.25
Ampicillin	0.25
Cefazolin	2
Cefotaxime	1
Cefotiam	>4
Cefixime	>1
Cefepime	2
Cefozopran	1
Cefditoren	0.25
Meropenem	0.25
Clarithromycin	≤ 0.12
Erythromycin	≤ 0.12
Clindamycin	≤ 0.12
Levofloxacin	>8

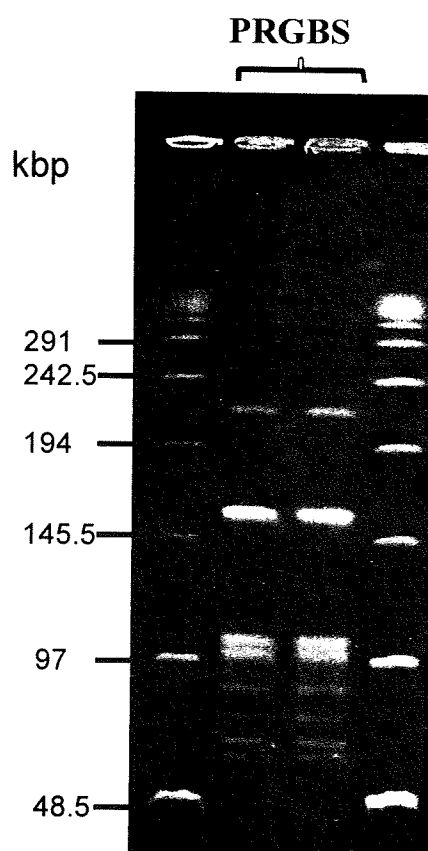


Fig. 1 PFGE profiles of ApalI-digested genomic DNA

CTX-M ESBL を産生する大腸菌で確認された 新型のホスホマイシン耐性遺伝子の解析

研究分担者 荒川 宜親 国立感染症研究所 細菌第二部 部長

研究要旨 ホスホマイシン(以下 FOM)は ESBL 産生大腸菌に対し有効な抗菌薬の一つとして、近年欧米で注目を浴びている。本研究では、わが国で分離された ESBL 産生大腸菌の FOM に対する薬剤感受性を調べるとともに、FOM 耐性メカニズムについて検討を行った。その結果、FOM は ESBL 産生大腸菌の多く(約 96%)に対し、良好な抗菌活性を示した。その一方、少なからず FOM 耐性株が存在し、それらの中にはプラスミド媒介性 FOM 耐性遺伝子を持つ株が存在することも同時に明らかとなった。したがって、FOM はわが国で分離される ESBL 産生大腸菌に対し有効な抗菌薬の1つとして現状挙げられるが、既にプラスミド媒介性 FOM 耐性遺伝子を持つ株が存在するため、今後臨床での FOM の使用増加が認められた場合、これら FOM 耐性株が選択され、拡散することが懸念される。

研究協力者

和知野純一(国立感染症研究所 細菌第二部)
木村幸司(同上)
山根一和(同上)
鈴木里和(同上)
松井真理(同上)
加地千春(同上)

産生する肺炎球菌等にも有効性が期待されるため、欧米では FOM が ESBL 産生大腸菌の治療用抗菌薬の選択肢の一つとして期待されている。

本研究では、わが国で分離された ESBL 産生大腸菌の FOM に対する薬剤感受性を調べるとともに、耐性メカニズムについても検討したので報告する。

A. 研究目的

大腸菌による尿路感染症の治療にはβ-ラクタム系やニューキノロン系の抗菌薬が頻用されている。しかし、extended-spectrum β-lactamase (ESBLs) の産生や DNA ジャイレース等の変異により、これらの抗菌薬に対する耐性を獲得した大腸菌が近年出現、蔓延し始め、臨床上問題となっている。このような状況を踏まえ、最近欧米では ESBL 産生大腸菌に対し、ホスホマイシン(以下 FOM)による治療法が検討され始めている。FOM に対する ESBL 産生大腸菌の薬剤感受性を調べる限り、良好な抗菌活性が認められ、また、最近、海外で増加が問題となっている KPC-型 β-ラクタマーゼを

B. 研究方法

菌株: 2002年から2007年にかけてわが国で分離された CTX-M ESBL を産生する大腸菌 192 株。

薬剤感受性試験: 薬剤感受性試験は CLSI(米国臨床検査標準委員会)が推奨する方法に準拠し、寒天平板希釈法にて実施した。

接合-形質転換: FOM に対し MIC(最小発育阻止濃度)64 μg/mL 以上を示した計 10 株を供与菌として用いた。受容菌には大腸菌 CSH-2 株(リファンピシン耐性)を使用した。接合体は FOM(25 μg/mL)を含んだ培地にて選択した。形質転換用の宿主には大腸菌 DH10B 株を使用した。

遺伝子解析: FOM 耐性が接合実験にて伝達した 3

株からプラスミドを抽出し、制限酵素にて切断した。切断片を pBCKS(+)ベクターに組み込み、大腸菌 DH10B 株に導入した。FOM(20 μ g/mL)を含んだ培地にて選択し、FOM 耐性遺伝子を有する形質転換体を得た。

蛋白精製:PCR にて FOM 耐性遺伝子を増幅し、蛋白発現用ベクターである pET29a ベクターに組み込んだ。作製したプラスミドを大腸菌 BL21(DE3)pLysS 株に導入した。IPTG により蛋白発現を誘導し、アフィニティーカラムとゲルろかカラムにて蛋白精製を行った。

蛋白機能解析:精製蛋白、FOM 及びグルタチオンを試験管内で混和し、インキュベーションした。反応後の FOM 残存活性をバイオアッセイにて調べた。

(倫理面への配慮)

本研究は分離菌株についての解析であり、ヒト由来の臨床材料を使用しない。また、菌が分離された患者の診療情報を扱わない。したがって、倫理上特段の問題点は発生しない。

C. 結果

わが国で分離された CTX-M ESBL 産生大腸菌 192 株について FOM に対する薬剤感受性を調べたところ、185 株(96.4%)が感性(MIC, 64 μ g/mL 以下)であった。また、中等度耐性(MIC, 128 μ g/mL)を示した株は 2 株(1.0%)、耐性(MIC, 256 μ g/mL 以上)を示した株は 5 株(2.6%)であった(図 1)。

FOM に低感受性(MIC, 64 μ g/mL 以上)を示した計 10 株を供与菌として接合実験を行ったところ、3 株(strain 08-642, 06-607, C316)について FOM 耐性の伝達を確認された。接合体にはそれぞれ 100kb 程度のプラスミドの導入が確認された。このプラスミドを接合体より抽出し、大腸菌 DH10B 株にエレクトロポレーション法にて再導入したところ、接合体と同様の FOM 耐性株が得られた。したがって、上記 3 株の FOM 耐性遺伝子は接合伝達性のプラスミド上に存在する可能性が示唆された(表 1)。

次に、大腸菌 08-642, 06-607, C316 株から FOM

耐性遺伝子を含む DNA 断片をクローニングした。クローニングされた DNA 断片を図 2 に示す。08-642 株及び 06-607 株から単離された DNA 断片中には DNA 転位因子である IS26 を両端とする約 4kb の領域が含まれていた。その中に既存の FOM 耐性遺伝子(*fosA*)と相同性のある新規耐性遺伝子(*fosA3*)が存在した。したがって、*fosA3* 遺伝子が 08-642 株および 06-607 株における FOM 耐性に関与しているものと予測された。また、C316 から単離された DNA 断片にも既存の FOM 耐性遺伝子(*fosC*)と相同性のある遺伝子(*fosC2*)が存在した。C316 株の FOM 耐性は *fosC2* 遺伝子が担っているものと予測された。*fosC2* 遺伝子はクラス 1 型インテグロンの遺伝子カセットとして存在した。

FosA3 および FosC2 蛋白の機能は、その構成アミノ酸からグルタチオン-S-トランスフェラーゼであると考えられた(図 3)。両酵素は FOM にグルタチオンを付加することにより FOM の抗菌活性を不活化しているものと予測された。そこで、両酵素を精製し、バイオアッセイによる蛋白機能解析を行った。その結果、FosA3 および FosC2 蛋白がグルタチオン存在下で FOM を不活化することが明らかとなった(図 4)。

D. 考察

わが国で分離された ESBL 産生大腸菌 192 株のうち、およそ 96%が FOM に対し感性を示した。したがって、FOM は ESBL 産生大腸菌の治療用抗菌薬の選択肢の1つとして有用である可能性が示唆された。しかし、臨床材料から分離される大腸菌には、わずかながら耐性株が存在していることが既に報告されており、ESBL 産生株においてもそれは例外ではなかった。

本研究では ESBL 産生大腸菌における FOM 耐性メカニズムに関し検討を行い、新たにプラスミドに媒介される FOM 耐性遺伝子を発見した。これらはグルタチオン存在下で FOM を修飾・不活化する酵素をコードする遺伝子であった。ESBL 産生大腸菌の FOM 耐性メカニズムについては、染色体上に存在する耐性因子を中心にこれまで検討がさ

れてきた。しかし、本研究により *fosA3* や *fosC2* などプラスミドによって媒介される耐性因子が存在することが明らかとなったため、今後 FOM 耐性因子について検討する際はこれらの存在も念頭において精査する必要があるものと考えられた。

本研究では FOM に低感受性 (MIC, >64 μ g/mL) を示した 10 株のうち、3 株からプラスミド媒介性の FOM 耐性遺伝子を発見した。残り 7 株については、プラスミドの接合や形質転換により FOM 耐性の移行が確認されなかったため、これらの株の FOM 耐性は染色体由来の因子に依存するものと考えられた。そこで、染色体由来の FOM 耐性因子について検討を行った (表 1)。その結果、UhpT や GlpT の欠損など、既存の耐性メカニズムを持つ株が存在する一方、それらに該当しない株も存在することが明らかとなり、新たな耐性因子が存在する可能性を示唆する結果となった。今後、それらについて解明をすすめる予定である。

E. 結論

わが国で分離される ESBL 産生大腸菌に対し、FOM が有用な抗菌薬の 1 つである可能性が示唆された。しかし、ESBL 産生大腸菌の中にはプラスミド媒介性 FOM 耐性遺伝子を有する株が存在することも明らかとなったため、今後、臨床での FOM 使用増加とともに、FOM 耐性株の選択、FOM 耐性遺伝子の拡散が懸念される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文 (雑誌) 発表:

なし

2. 学会発表:

- 1) J.WACHINO, K.YAMANE, S.SUZUKI, K.KIMURA, Y.ARAKAWA. Identification of novel plasmid-mediated fosfomycin resistance genes among clinically isolated CTX-M-producing *Escherichia coli*. 49th Interscience Conference of Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC). Sep 2009, San Francisco
- 2) 和知野純一, 山根一和, 鈴木里和, 木村幸司, 松井真理, 加地千春, 荒川宜親. CTX-M ESBL 産生大腸菌におけるホスホマイシン耐性率と耐性機序の検討. 第 38 回薬剤耐性菌研究会, 平成 21 年 11 月, 渋川

H. 知的所有権の出願・登録状況

1. 特許取得: なし

2. 実用新案登録: なし

3. その他: なし

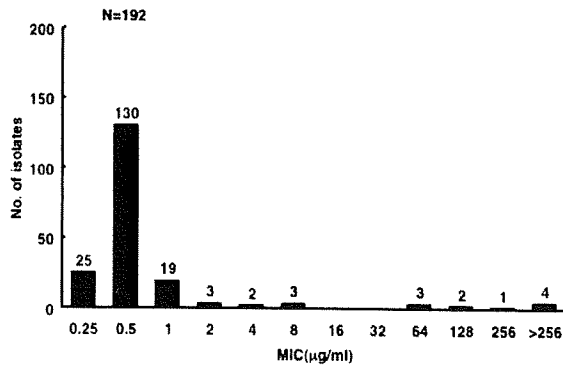


図 1. ESBL 産生大腸菌の FOM に対する薬剤感受性試験成績

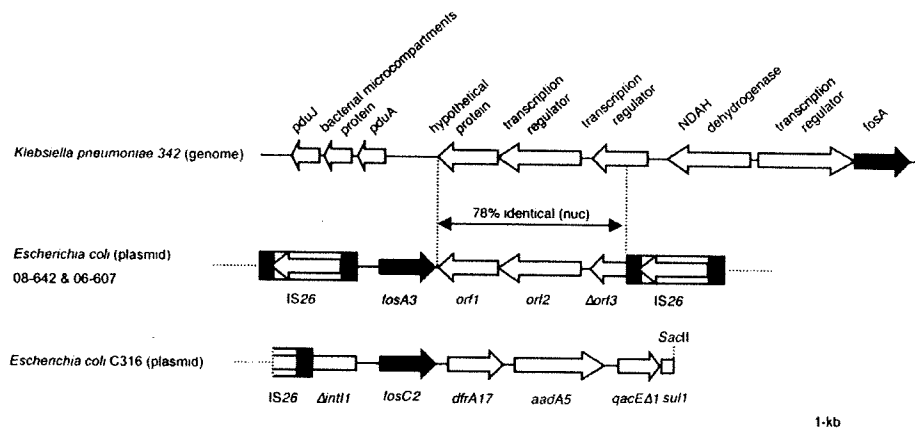


図 2. FOM 耐性遺伝子およびその周辺構造

	34 39
FosA TM	MLQSLNHLTLAVSDLQKSVTFWHELLGLTLHARWNTGAYLTCGDLWVCLSYDEARQYVPP
FosA ^{PA}	MLTGLNHLTLAVADLPASIAFYRDLGFRLEARWDQGAYLELGSWLCLSRPQ--YGGP
FosA ²	MLQSLNHLTLAVSDLQKSVTFWHELLGLTLHARWNTGAYLTCGDLWVCLSYDEARQYVPP
FosA ³	MLQGLNHLTLAVSDLASSLAFYQQLPGMRLHASWDSGAYLSCGALWLCVSLDEQRRKTPP
ORF1	MITGINHITFSVRDLRASIEFYRDLGKMLHVFWDGTAGNTWLCVSLGQ----PE
FosC	MLRGLNHITIAVSDLRSLAFYTDIVGMLAHVRWDNGAYLSLGGVWFCLSCDKV----M
FosC ²	MLRGLNHITIAVSDLERSVEFYTRLGKMAHVRWDNGAYLSLEATWICLSCDEV----H
	*: .:***:~* ** * : * : * : . : * : **** * .***
	90
FosA TM	QESDYTHYAFTVAEEDFEPFSQRLEQAGVTIWKQKSEGASFYFLDPDGHKLELHVGS LA
FosA ^{PA}	-AADYTHYAFGIAAADFARFAAQLRAHGVREWKQNRSEGD SFYFLDPDGHRL EAHVGD LR
FosA ²	QESDYTHYAFTVAEEDFEPFSKLEQAGVTIWKQKSEGASFYFLDPDGHKLELHVGS LA
FosA ³	QESDYTHYAFSVAEEEFAGVVALAQAGAEVWKDNRSEGASFYFLDPDGHKLELHVGN LA
ORF1	PAKDYTHVAFSVREGELLELRKLLKQAGVEWKQNTSEGD SIYLLDPNGHRL ELCGTL A
FosC	PSQDYSHIALDISEDDFASFLEKLRADVTEWKQNSSEGVS YVFLDPDGNKLEAHSGSL Q
FosC ²	PSQDYCHIAFDVSEENFEPVTKLREAHVVEWKQNRSEGLS LYLDPDGHKLEIHSGLQ
	** * * : : : : * . ** : * * * * : * : * * * * : * * * *
	119 128
FosA TM	ARLAACREKPYAGMVFTSDEA
FosA ^{PA}	SRLAACRQAPYAGMRFVDG--
FosA ²	ARLAACREKPYAGMVFTSDEA
FosA ³	QRLAACREKPYAGMVFFD---
ORF1	TRLAELESSPYKGLVWS----
FosC	SRLSSLKDKPYGLVWL----
FosC ²	SRLESLSKPYQGLVWL----
	** .. ** * : :

図 3. FOM 耐性に関与するグルタチオン-S-トランスフェラーゼのアミノ酸配列の比較

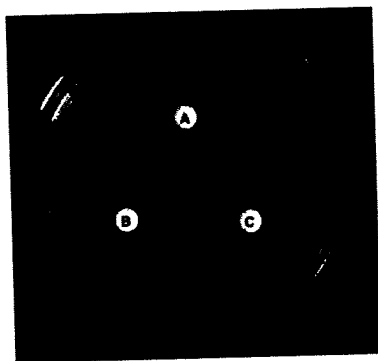


図4. バイオアッセイ:試験管内でFOM, グルタチオン(GSH)及び精製酵素を混和し、一定時間インキュベーションした後の残存活性をバイオアッセイにて測定した。指示菌には *E. coli* ATCC25922 株を使用した。(A)FOM+GSH, (B)FOM+GSH+FosA3, (C)FOM+GSH+FosC2

TABLE 1. Characteristic of *E. coli* strains used in this study

<i>E. coli</i> clinical isolate	Characteristic of <i>murA</i> , <i>uhpA</i> , <i>uhpT</i> , and <i>glpT</i> genes	MIC ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	
		fosfomycin	cefotaxime
08-555	<i>glpT</i> : ₃₆₃ 227 bp deletion _{1,254}	>256	>128
08-642		>256	64
06-607		>256	16
05-244	<i>glpT</i> : ₁₂₄ 14 bp duplication ₁₄₄ , <i>uhpT</i> : ₁₁₇₃ 96 bp deletion _{1,270}	128	>128
05-690	<i>uhpA</i> stop at 144 amino acid position	64	64
03-271	a failure in PCR amplification of <i>uhpA</i> and <i>uhpT</i>	64	32
03-285		128	>128
03-286	<i>glpT</i> : ₄₀₃ 5 bp duplication _{1,111}	64	>128
03-287	<i>glpT</i> : ₄₀₃ 5 bp duplication _{1,111}	>256	128
C316		256	128
Characteristics			
<i>E. coli</i> CSH-2 conjugant			
CSH-2 (p08-642)	A conjugant of <i>E. coli</i> 08-642 strain	>256	128
CSH-2 (p06-607)	A conjugant of <i>E. coli</i> 08-607 strain	>256	32
CSH-2 (pHPA)	A conjugant of <i>E. coli</i> C316 strain	>256	64
<i>E. coli</i> DH10B transformant			
DH10B (pK-fosA3)	A transformant containing a KpnI fragment with <i>fosA3</i> from p08-642	>256	≤ 0.06
DH10B (pS-fosA3)	A transformant containing a SacII fragment with <i>fosA3</i> from p06-607	>256	≤ 0.06
DH10B (pS-fosC2)	A transformant containing a SacII fragment with <i>fosC2</i> from pHPA	>256	≤ 0.06
<i>E. coli</i> CSH-2	Resistant to rifampin and nalidixic acid	1	≤ 0.06
<i>E. coli</i> DH10B(pBCKS+)	Resistant to streptomycin and chloramphenicol	0.5	≤ 0.06

表1.本研究にて使用した大腸菌およびそれらの最小発育阻止濃度

VRE、MDRP 等の伝播様式と蔓延防止に関する研究

研究分担者 飯沼由嗣 (京都大学大学院医学研究科臨床病態検査学)

研究要旨

本研究では、MDRP 等の薬剤耐性菌の感染伝播様式の解析のため、再現性が高く実施が比較的容易な分子疫学解析法の開発及び評価を目的とした。菌株毎に保有状態の異なる open reading frame (ORF) の臨床分離株における保有パターンに関する研究を行い、緑膿菌においては ORF の保有パターンが菌株毎に異なることを発見し、ORF 保有パターンにもとづく菌株タイピング開発の可能性が示された。また、わが国では発見が稀とされる、市中感染型 MRSA の解析結果により、クローン特異的な ORF 保有パターンから USA300 MRSA の推定が可能であることを明らかにした。

研究協力者

鈴木 匡弘 愛知県衛生研究所 生物学部

MRSA クローンの簡易同定が可能となるとともに院内感染型 MRSA (NY/Japan クローン) 以外の MRSA やメチシリン感受性黄色ブドウ球菌を解析した際の解析能力が向上している。

近年全ゲノム塩基配列の解明が進み多くの菌種で複数株の全ゲノム情報が利用できるようになり緑膿菌においても少なくとも4株のゲノム情報が利用可能である。複数株の全ゲノム情報を比較することで、菌株間の差異に関する情報を容易に得られ、新たな解析法の開発が可能と考えられる。

そこで本研究では以下の課題に取り組んでいる。

1. 緑膿菌のデジタルタイピング法の開発

緑膿菌の全ゲノム配列を比較し、菌株毎に保有状態が異なる部分を選別し、それらの中からタイピングに利用する ORF の候補を選び、臨床分離株における保有状態を調査することで、デジタル分子疫学解析法開発の可能性を検討した。

2. 改良 POT 法による市中感染型 MRSA の解析

改良された POT 法を用いて Pantone-Valentine leucocidin (PVL) 遺伝子陽性市中感染型 MRSA の解析を行い、その有効性を検討した。

A. 研究目的

医療関連感染の主要な原因菌としてメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) や多剤耐性緑膿菌 (MDRP) は適切な感染管理を必要としている。感染管理の一法として、集団感染が疑われる際にはパルスフィールドゲル電気泳動法 (PFGE 法) のような分子疫学解析が実施され、感染源調査や集団感染の規模を特定するのに効果を発揮する。また PFGE 法のような分子疫学解析結果を医療スタッフに提示することで、感染管理意識の高まりも期待できる。

ところが、PFGE 法は少なくとも3日と時間がかかることに加え、複雑なバンドパターンを解析する必要があり、データベース化や結果報告に手間取ることが多い。PFGE 法の問題点の解決策として、MRSA においては multiplex PCR を利用した phage ORF typing 法 (POT 法) が開発された。POT 法では菌株により保有状態の異なる ORF (主に溶源化ファージを構成する ORF) を16個検出し、その有、無を1,0に置き換えることで遺伝子型をデジタルに捉えることができる。POT 法は3~4時間で結果が得られる、PFGE 法と同等の菌株識別能を有しているといった特徴のみならず、遺伝子型のデータベース化や結果報告にも有利であった。このように遺伝子型を ORF の有無で決定するデジタル分子疫学解析法は、感染管理の実用上有利であることを示している。

MRSA の POT 法については改良が加えられ、

B. 研究方法

1. 緑膿菌のデジタルタイピング法の開発

タイピングに利用する ORF 候補の選択

3株 (PA7(NC_009656)、PA14(NC_008463)、PAO1(NC_002516)) の緑膿菌全ゲノム塩基配列を MBGD web site (<http://mbgd.nibb.ac.jp/>)にて比較した。菌株により保有状態の異なる部分のデータを取り込み、Microsoft Excel 上で検討を加えた。候補 ORF は比較に利用した3株のうち、いずれか2株が保有しているもの(74個)およびいずれか1株のみが保有しているもの(21個)のあわせて95個を選別した。95個の ORF について、プライマーを設計し、PCRにて臨床分離された緑

膿菌における ORF 保有状態を調査した。
スクリーニングに用いた菌株

愛知県で分離された 73 株（うち集団感染 2 事例、18 株と 26 株）及び新潟県で分離された 6 株について、*SpeI* 切断による PFGE 解析ならびにデンドログラム解析を行い、異なるクラスターから 14 株、同一クラスター 2 つから 6 株及び 3 株の合計 23 株を選択した（図 1）。集団感染事例由来の分離株は CPFX、AMK 耐性に加え、一部の分離株では IPM 耐性を獲得していたが、メタローβ-ラクタマーゼは検出されていない。

2. 改良 POT 法による市中感染型 MRSA の解析
京都大学病院で 2007 年及び 2009 年に分離された PVL 遺伝子陽性 MRSA3 株および名古屋医療センターで 2004 年に分離された PVL 遺伝子陽性 MRSA を改良 POT 法解析した。POT 型への変換は表 2 に示す。また、arginine catabolic mobile element (ACME) 及び *SmaI* 切断による PFGE 解析もあわせて実施した。

倫理面への配慮

本研究では患者情報を切り離した臨床分離菌株のみを取り扱い、患者情報は不明であるため、倫理上の問題は発生しない。

C. 研究結果

1. 緑膿菌のデジタルタイピング法の開発

23 株の臨床分離緑膿菌における 95 個の候補 ORF の保有状態を調査したところ、68 個の ORF については保有状態に菌株間で差が見られた。一方 9 個についてはすべての分離株が保有せず、18 個についてはすべての分離株が保有していた。

候補 ORF の中から菌株識別に利用した際に効果が高いと期待される 24 個の ORF（表 1）を選び出し、供試菌株の保有パターンと PFGE パターンを比較した（図 1）。おおむね PFGE パターンとの相関が見られた。しかし、同一集団感染由来であるにもかかわらず異なる ORF 保有パターンとなる株がある一方、異なる PFGE パターンの株が比較的良く似た ORF 保有パターンとなる場合も見られた（図 1 アスタリスク）。

絞り込んだ 24 個の ORF のゲノム中の位置は分散していた（表 1）。これらの ORF のうち 15 個は検出 ORF の周辺領域が全ゲノム配列データ菌株間で比較的保存されている genomic islet であった。5 個については全ゲノム配列データ菌株間において多様な ORF が入り組んだ高変異領域であり、残り 4 個についてはファージあるいは genomic island と考えられる比較的大きい挿入領域であった。ゲノム中の同一位置に見つかった orf No. 8 と 9 ならびに 15 と 16 の保有パターンには依存性が

あり、すべての分離株でどちらか一方を保有していた。

2. 改良 POT 法による市中感染型 MRSA の解析
供試した臨床分離株 4 株はすべて USA300 FPR3757 株と同一 PFGE パターンとなり（図 2）、かつ ACME を保有していた。改良 POT 法による ORF 保有パターンは臨床分離の 4 株及び USA300 FPR3757 株すべてが同一パターンとなり、POT 型は 106-77-113 であった（図 3、FPR3757 株については写真なし）。

D. 考察

1. 緑膿菌のデジタルタイピング法の開発

緑膿菌のデジタルタイピングのための候補 ORF の多くは genomic islet であることから、今回用いた ORF セットによる菌株識別能力は PFGE 解析におけるホモロジー 70 ~ 80 % 程度のクラスターが同一パターンになることが期待され、実験結果もほぼ期待どおりと考えられる。

その一方で同一集団感染由来と考えられる菌株間で保有状態が異なる ORF が見られた。このような ORF については PCR がうまくかからなかった可能性や過剰に変異する部位である可能性を考慮し、タイピングに用いるべきか否かを判断する必要がある。

また、PFGE パターンが異なるにもかかわらず比較的近いパターンとなった分離株は遺伝的な背景が近い可能性もあると考えられる。今後 multilocus sequence typing (MLST) や variable number tandem repeat analysis (VNTR) などの手法を用いて遺伝的な近縁関係を調査する必要がある。

緑膿菌は同一集団感染と考えられる集団から採取された菌株でも PFGE パターンが変化していることが多く、変異しやすい菌種と言える。判断のしやすさを考慮し、PFGE よりも変化しにくい検出標的の選択を目指すことで利用しやすいタイピング法の開発が可能と考える。

2. 改良 POT 法による市中感染型 MRSA の解析

京都大学病院及び名古屋医療センターで分離された PVL 産生市中感染型 MRSA は北米などで流行している USA300 クローンであると考えられた。USA300 FPR3757 株と臨床分離された株は直接的な関係がないにもかかわらず PFGE パターン、POT 型ともに同一であり、きわめて遺伝的な変化の少ないクローンであることが示唆された。USA300 は MLST 解析による ST8、clonal complex 8 かつ SCCmec type IV a を保有し、日本で多く見られる市中感染型 MRSA との主な違いは PVL 産生能と ACME の保有である。これらの遺伝子を検

出することで容易に他の市中感染型 MRSA と区別することが可能であるが、院内感染の分子疫学調査の際に実施した POT 型によって推定することも可能と考えられる。

E. 結論

緑膿菌のデジタルタイピング法の開発については PCR 反応の再現性やよく似た ORF 保有パターンになってしまう株の存在など解決すべき問題はあがるが、ORF の有無によるタイピング法の開発の可能性が示された。

改良 POT 法による市中感染型 MRSA の解析から USA300 MRSA は変異が少なく改良 POT 法による分子疫学解析による推定が可能であることを明らかにした。

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Suzuki M, et al.: Identification of the clonal complexes of *Staphylococcus aureus* strains by determination of the conservation patterns of small genomic islet. *J Appl Microbiol* 107:1367-74, 2009.

2) Nada T, Suzuki M, et al: Usefulness of phage open-reading frame typing method in epidemiological study of an outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. *Jpn J Infect Dis* 62:386-9, 2009.

2. 学会発表

1) 鈴木匡弘, 他: Phage ORF typing 法 (POT 法) による持ち込み MRSA 株数調査: POT 法応用研究 (II)、日本感染症学会総会、2009 年 4 月、東京都。

2) 鈴木匡弘, 他: Phage ORF typing (POT) 法による院内感染疑い事例の解析、第 38 回薬剤耐性菌研究会、2009 年 11 月、群馬県渋川市。

3) 鈴木匡弘, 他: Islet Pattern 解析による黄色ブドウ球菌 clonal complex の予測、第 21 回日本臨床微生物学会総会、2010 年 1 月、東京都。

4) Nakagawa R, Iinuma Y, Suzuki M, et al : Molecular characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the neonatal intensive care unit in a Japanese university hospital, the 49th ICAAC, Sept/2009, San Francisco, USA.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

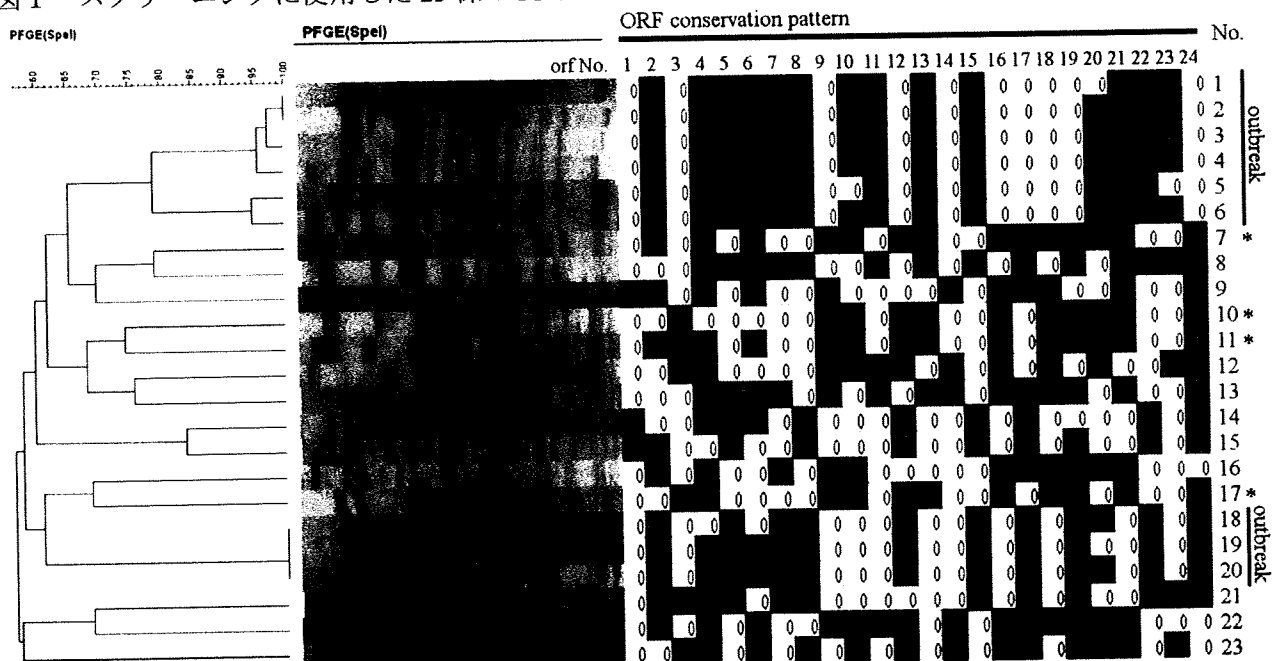
3. その他

なし

表 1 24 個の候補 ORF

orf No.	orf name	source strain	selected locus type	position (% from oriC)
1	PSPA7_0104	PA7-PA14	Island	2
2	PA14_06260	PA14-PAO1	Islet	9
3	PA14_10960	PA14	Islet	15
4	PA14_13350	PA14-PAO1	Islet	18
5	PA14_14300	PA14	Variable locus	19
6	PA14_16100	PA14-PAO1	Islet	21
7	PA14_18960	PA14-PAO1	Islet	25
8	PSPA7_1768	PA7-PA14	Islet	27
9	PA3362	PAO1	Islet	27
10	PA3065	PAO1	Islet	32
11	PA14_27990	PA14-PAO1	Variable locus	37
12	PSPA7_2463	PA7-PAO1	Variable locus	38
13	PSPA7_3038	PA7-PAO1	Island	47
14	PSPA7_3112	PA7-PAO1	Island	49
15	PA14_37170	PA14	Variable locus	50
16	PSPA7_3188	PA7-PAO1	Variable locus	50
17	PA14_44920	PA14-PAO1	Islet	62
18	PSPA7_4164	PA7-PAO1	Islet	66
19	PSPA7_4523	PA7-PA14	Island	73
20	PA14_56800	PA14-PAO1	Islet	79
21	PSPA7_5189	PA7-PAO1	Islet	83
22	PSPA7_5593	PA7-PA14	Islet	89
23	PA14_67190	PA14-PAO1	Islet	92
24	PA5264	PAO1	Islet	95

図 1 スクリーニングに使用した 23 株の PFGE パターンと ORF 保有パターン

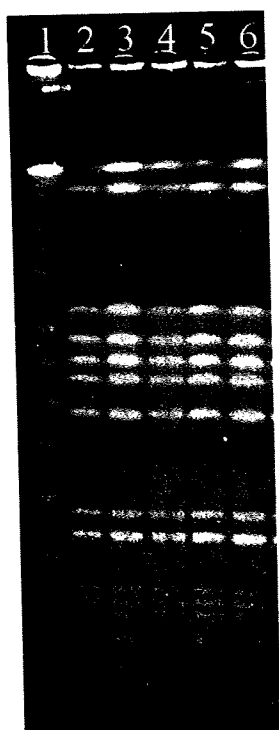


標的 ORF が検出された場合、黒い四角形で示してある。

表2 電気泳動パターンから POT 型への変換

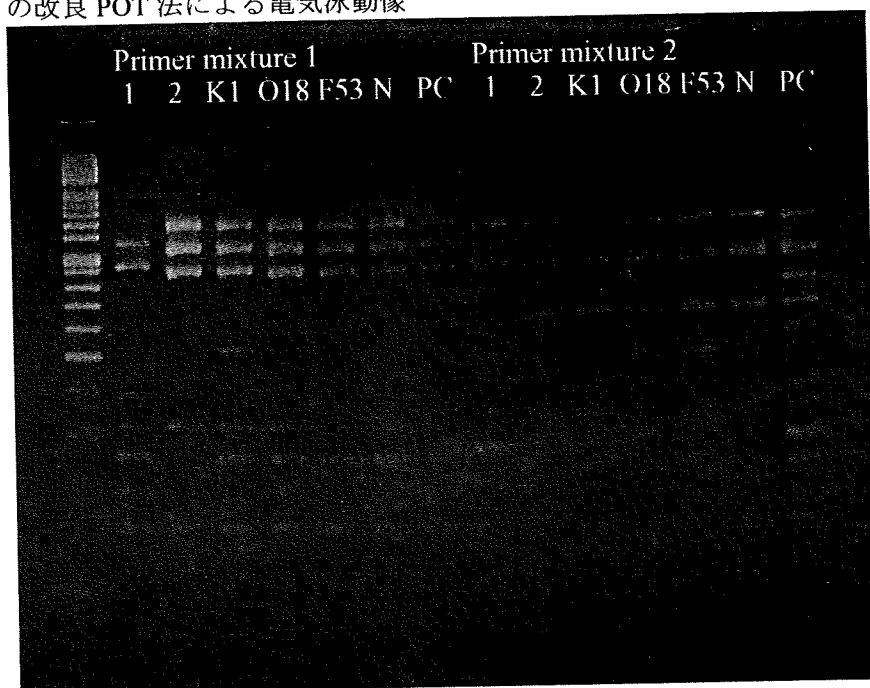
	bp	K1	
Reaction mixture 1	femA	601	1
	POT1-1	530	64 × 1 = 64
	POT1-2	449	32 × 1 = 32
	POT1-3	355	16 × 0 = 0
	POT2-1	304	128 × 0 = 0
	POT2-2	271	64 × 1 = 64
	POT2-3	228	32 × 0 = 0
	POT2-4	197	16 × 0 = 0
	POT2-5	161	8 × 1 = 8
	POT2-6	131	4 × 1 = 4
	POT2-7	104	2 × 0 = 0
	POT2-8	81	1 × 1 = 1
	Reaction mixture 2	femA	601
POT1-4		477	8 × 1 = 8
POT1-5		388	4 × 0 = 0
POT1-6		320	2 × 1 = 2
POT1-7		273	1 × 0 = 0
POT3-1		243	64 × 1 = 64
POT3-2		197	32 × 1 = 32
POT3-3		171	16 × 1 = 16
POT3-4		140	8 × 0 = 0
POT3-5		115	4 × 0 = 0
POT3-6	95	2 × 0 = 0	
POT3-7	78	1 × 1 = 1	
			POT1 = a+c = 106
			POT2 = b = 77
			POT3 = d = 113

図2 PVL 遺伝子陽性市中感染型 MRSA の PFGE パターン



1 : λ ラダー、2 : FPR3757 (ATCC BAA-1556)、3 : 名古屋医療センター2004 年、4 : 京都大学病院 2007 年 O18、5 : 京都大学病院 2007 年 F53、6 : 京都大学病院 2009 年

図3 京都大学病院および名古屋医療センターで分離された PVL 遺伝子陽性市中感染型 MRSA の改良 POT 法による電気泳動像



1, 2 : PVL 遺伝子陰性 MRSA、K1 : 京都大学病院 2009 年分離株、O18, F53 : 京都大学病院 2007 年分離株、N : 名古屋医療センター分離株、PC : 陽性コントロール

グラム陽性菌（腸球菌、黄色ブドウ球菌）の多剤耐性菌の研究

研究分担者 池 康嘉（群馬大学大学院医学研究科細菌学、
同薬剤耐性菌実験施設）

研究要旨

日本の院内感染から分離された VanA 型 VRE の解析

中京地区で発生した新たな VRE 院内感染例から分離された 103 株の VRE を解析した。103 株のうち 100 株は *E. faecium* VanA 型 VRE で、PFGE の結果、すべて同一株であった。この VanA 型 VRE はバンコマイシン高度耐性 (Van 128 μ g/ml \leq) テイコプラニン低感受性 (Teic 8~16 μ g/ml) であった。遺伝子構造解析の結果、VanA 遺伝子群 *vanRSHWXYZ* の中で *vanY* に IS1216V が挿入され、挿入部より下流 (*vanY* の一部と *vanZ*) が欠失していた。このことは、*vanY*、*vanZ* がテイコプラニン耐性に必要なことを示唆するものである。この型の VRE による院内感染は我が国では初めてである。

研究協力者

谷本弘一	薬剤耐性菌実験施設	准教授
富田治芳	細菌学	准教授
井上貴子	細菌学	助教
野村隆浩	細菌学	技術専門職員

現機構は基本的に *vanA* 遺伝子(群)と同様である。*vanA* 遺伝子(群)は Tn1546 内の non-coding region への IS の挿入等により多様性が存在する。これまでに、全国調査により得られた *E. faecium* VanA 型 VRE23 株の *vanA* 構造解析を行い、7つの型に分類し、我が国に特異的な *vanA* が存在することを報告した。今回、新たな院内感染株の解析を行い、これまで報告されていない構造と形質の株であったことを報告する。

A. 研究目的

日本はバンコマイシン(VCM)耐性腸球菌(VRE)が高頻度に分離される諸外国と比較して、VRE 分離が例外的に少ない国である。本研究では、日本で散発的に分離される VRE の遺伝学的解析を行い、その特徴を明らかにして、日本の VRE のリファレンスを作成することを目的とする。

VRE は *vanA*、*vanB*、*vanC*、*vanD*、*vanE*、*vanG* の 6 種類の VCM 耐性遺伝子(群)が知られている。臨床問題になるのは高度 VCM 耐性を示す A、B、D 型である。この中で *vanA* 型が最も多く分離される。VanA 遺伝子群はトランスポゾン Tn1546 (10.85Kb) 上に存在し、*vanR*、*S*、*H*、*A*、*X*、*Y*、*Z* の遺伝子から構成される複合遺伝子(オペロン)である。薬剤(グリコペプチド)の sensor (認識) 蛋白 VanS と VanS によりリン酸化され活性化される VanR が *vanHAX* を発現させる 2 成分調節機構(*vanR*、*S*) である。VanA は -D-Ala⁴、-D-Lac⁵ ligase、VanH、VanR はそれぞれピルビン酸から D-Lac を生産するためのデヒドロゲナーゼ遺伝子、D-Ala⁴-D-Ala⁵ を分解するための D、D-ジペプチダーゼ遺伝子である。VanY はペンタペプチドの -D-Ala-D-Ala を加水分解する。VanZ の機能は不明である。他の型の VCM 耐性遺伝子(群)の構造と発

B. 研究方法

院内感染株 103 株を用いた。対照株として *E. faecium* BM4147 を用いた。菌種と VRE 型の決定は、PCR 法を用いた。VCM とテイコプラニン(TEIC)の MIC は平板希釈法を用いた。菌の相同性確認は、パルスフィールド電気泳動法と MLST 法を用いて分類を行った。分類した株の中から代表を選びそれぞれの株の Tn1546 の *vanA* 遺伝子群の PCR を行い IS の挿入及び遺伝子変異を調べた (図 1)。さらに、PCR 産物を直接シーケンスすることにより塩基配列を決定した。プラスミド DNA の分離、解析等は前報に従った。

C. 研究結果、D. 考察

103 株の VRE 型はすべて *vanA* 型 VRE でその内、自然耐性型の *van* 遺伝子をもつ *E. gallinarum* (*vanC1* 型)と *E. casseliflavus* (*vanC2* 型)がそれぞれ 1 株ずつと *E. avium* が 2 株あり、他の株はすべて *E. faecium* であった。*E. faecium vanA* は VCM 高度耐性 (MIC 128 μ g/ml \leq) TEIC 低感受性 (MIC 8~16 μ g/ml) であった (表 1)。これらの *E. faecium* 株は PFGE ですべ

て同一株であった (図 2)。Tn1546 の VanA オペロンの各遺伝子の検出を PCR で行った。用いた PCR のプライマーは図 1 に示した。PCR の結果、*vanS*, *vanH*, *vanA* 領域は Tn1546 野性型と同一の遺伝子が存在することが推測された (表 2)。次に、Tn1546 の *vanA* 遺伝子(群)の構造解析の結果、*E. gallinarum* 以外の株は *vanA* 遺伝子群の *vanR* の上流と *vanX*, *vanY* の間の non-coding region と *vanY* の中に IS1216V が挿入され、*vanY* に挿入された IS1216V から C 末側がすべて欠失していた (図 3)。これらの株は VCM 高度、TEIC 低度耐性でこれは、この欠失が原因と考えられた。これらはこれまでに日本、韓国、アメリカで報告のある Tn1546 とは異なる IS 挿入変異株であった。一方、*E. gallinarum* の *vanA* 遺伝子群を持つ Tn1546 は他の株の Tn1546 と異なり IS の挿入の無いプロトタイプと同一であった。この株は、他の大学附属病院に転院し戻ってきた患者より分離された。この株から分離された VCM 耐性プラスミドは、かつて、その大学附属病院で分離された、VCM 耐性接合伝達性プラスミドに構造が類似していた。この結果は、病院間の VRE の伝播を示唆する。

E. 結論

日本のこれまで分離された VRE の特徴は、欧米と比べ、*E. faecium*, および *E. faecalis* VRE、VanA 型、VanB 型 VRE が比較的多く分離されることと、*vanA* genotype, VanB phenotype の VRE (*vanA* VanB 型) が分離されることである。*vanA* VanB 型はタイ産輸入トリ肉から分離される *vanA* 型 VRE と同一の遺伝子構造で、*vanS* 遺伝子の 3ヶ所のアミノ酸の突然変異が存在する。今回、院内感染から分離された VRE はこれと異なり、*vanYZ* 変異による *vanA* VanB 型 VRE であった。

F. 健康危機情報

G. 研究発表

1. 論文発表
2. 学会発表

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
2. 実用新案登録
3. その他