



Title	Transmission dynamics of a linear vanA-plasmid during a nosocomial multiclonal outbreak of vancomycin-resistant enterococci in a non-endemic area, Japan
Author(s)	藤谷, 好弘
Citation	大阪大学, 2021, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/85355
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	藤谷 好弘
論文題名 Title	Transmission dynamics of a linear <i>vanA</i> -plasmid during a nosocomial multiclonal outbreak of vancomycin-resistant enterococci in a non-endemic area, Japan (非流行地域の多様なバンコマイシン耐性腸球菌による院内アウトブレイク事例における <i>vanA</i> 搭載線状プラスミドの流行動態)
論文内容の要旨	
〔目 的(Purpose)〕 バンコマイシン耐性腸球菌 (VRE) による医療関連感染症は治療薬の選択肢が限られ、バンコマイシン感受性腸球菌と比較して致命率が高い。その耐性機序は主に <i>van</i> 遺伝子群の発現による。代表格である <i>vanA</i> は Tn1546 内に位置し、Tn1546 は高頻度接合伝達性プラスミドによって腸球菌間で伝播することが知られている。これにより <i>vanA</i> の効率的な伝播と拡散が生じ、急速な腸球菌のバンコマイシン耐性化が起こると考えられる。近年、全ゲノム解析 (WGS) が薬剤耐性菌のアウトブレイクの感染経路の特定に有用であると言われている。多種類のカルバペネム耐性腸内細菌科細菌によるあるアウトブレイクでは、カルバペネム耐性遺伝子を保有する伝達性プラスミドが多種菌に取り込まれるプラスミド媒介性のアウトブレイクであることが WGS により示された。しかし、VRE のアウトブレイクにおいて <i>van</i> 遺伝子保有プラスミドに注目した報告は少ない。今回、我々は単施設の長期にわたる多クローン性の VRE のアウトブレイクを経験した。非流行地域の単施設における多クローン性のアウトブレイクの機序について疫学的、微生物学的に解析した。また、本事例は長期にわたって持続したが、その終息に寄与した因子について感染制御の観点から分析した。 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 2017年～2019年に127床の透析病院において149人がVREに感染し、161株のVREが検出された。質量分析法により155 (96%) 株が <i>Enterococcus faecium</i> であった。E-test による薬剤感受性試験では131 (86%) 株がバンコマイシン高度耐性だったが、119 (78%) 株はテイコプラニンに感受性であった。<i>van</i> 遺伝子の型はPCR法にて実施し、全株が <i>vanA</i> を保有していた。検出菌の同一性を評価するためにパルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) 及び Multilocus sequence typing (MLST) を実施した。PFGE では31パターンに、MLST では6つの sequence type に分けられた。このように多様なVREが検出された機序として、共通の <i>vanA</i> 保有プラスミドの存在が考えられた。染色体とプラスミドを分離するために菌種や検出時期などが異なる株を選別してS1-PFGEを実施すると、約110 kb付近に共通のプラスミド (pIHVA) を認めた。<i>vanA</i> をプローブとしてサザンブロット法を行うとすべてのpIHVAは <i>vanA</i> を保有していた。このことからpIHVAの多様な腸球菌種への伝播により多クローンのVREのアウトブレイクを呈したと考えられた。pIHVAの詳細を分析するためにMiSeqおよびGridIONにてプラスミドゲノムを解読すると、環状プラスミドではないことが判明した。S1 nuclease処理の有無に関わらずPFGEにて同位置にバンドを認め、制限酵素処理にて <i>vanA</i> 保有断片のサイズが制限酵素地図と一致した。よって、pIHVAは線状プラスミドであることが判明した。Tn1546様の構造部は <i>vanYZO</i> の配列が変化したユニークな構造であり、<i>vanZ</i> が IS1216E によりほぼ欠失のような状態であることがテイコプラニン感受性に影響しているものと推測された。また、今までに報告された高頻度接合伝達性プラスミドとは異なる新たな伝達性プラスミドであった。代表的な50株のpIHVAを抽出してゲノムを解読すると、欠失やIS挿入などにより9つの型に分けられ、患者の疫学情報と突合させると、pIHVAが変異を伴いながら多様な腸球菌種に伝播しており、<i>vanA</i> 保有のプラスミドの伝播・拡散の様子を可視化することができた。本事例は終息までに3年を要し、通常の手指衛生等の感染対策の遵守、環境整備等では制御が困難であった。“hot spot” だったA病棟に着目すると、新規VRE患者数は病棟のVRE保菌患者の割合と相関 ($\rho=0.62$, 95%信頼区間[CI]: 0.29-0.82) し、VRE保菌患者の割合は病棟におけるバンコマイシンの使用量と相関 ($\rho=0.66$, 95% CI: 0.36-0.84) していた。抗菌薬適正使用プログラムの強化およびVRE保菌患者を分散させるなどの対策を追加することで、新規VRE患者は減少を認めた。これらは一般病棟におけるVREのアウトブレイクを制御するための指標となる可能性がある。 〔総 括(Conclusion)〕 VREのアウトブレイク事例において、ゲノム解析により腸球菌間を <i>vanA</i> 保有線状プラスミドが伝播・拡散の様子が可視化でき、非流行地域におけるVREの多様性が生まれる機序と考えられた。VREのアウトブレイク事例では保菌患者の割合やバンコマイシンの使用量が制御の指標となる可能性も示唆された。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 藤谷 好弘			
論文審査担当者	(職)	氏 名	
	主 査	大阪大学教授	忽那 賢一
	副 査	大阪大学教授	飯田 哲也
	副 査	大阪大学教授	祖久江 友孝
論文審査の結果の要旨 本研究は日本では稀であるバンコマイシン耐性腸球菌（VRE）の病院内アウトブレイクを疫学的に解析し、介入を行うことでアウトブレイクを収束させることができた貴重な報告である。 今回のアウトブレイクの原因となったVREの持つバンコマイシン耐性遺伝子vanAを搭載した線状プラスミド pIHVA は今回の報告が世界最初のものであり、今後の耐性菌疫学に大きな知見を与えるものと考えられる。 また抗菌薬適正使用の推進によりバンコマイシン使用量を減少させることによってアウトブレイクを収束させることができたことは、感染制御学領域において重要な結果といえる。 以上のことから、本研究は博士（医学）の学位授与に値するものと考えられる。			