

## 愛知県で分離された腸球菌の疫学解析

坂梨大輔<sup>1)</sup>・山岸由佳<sup>1,2)</sup>・鈴木隆佳<sup>1)</sup>・大野智子<sup>1)</sup>・  
山田敦子<sup>1)</sup>・末松寛之<sup>1)</sup>・三嶋廣繁<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup> 愛知医科大学病院感染制御部

<sup>2)</sup> 愛知医科大学病院感染症科

(2014年1月6日受付)

2008年4月から2013年1月の期間に愛知医科大学病院で臨床分離され、バンコマイシン耐性腸球菌 (VRE) 選択培地に発育を認めるかバンコマイシン (VCM) のMIC値が4 $\mu$ g/mL以上を示した腸球菌353株および同期間に愛知県下8施設より検査依頼のあった腸球菌120株についてVCM耐性遺伝子 (*van* 遺伝子) の保有状況を調査した。*vanA* 保有腸球菌が愛知医科大学病院および他2施設から計8株、*vanB* 保有腸球菌が6施設から計105株それぞれ検出された。*vanC1* 単独保有腸球菌については愛知医科大学病院および他2施設から計21株、*vanC2/C3* 単独保有腸球菌については愛知医科大学病院から4株検出された。*van* 遺伝子保有腸球菌のうち、全自動細菌検査装置にてVCMのMIC値が4 $\mu$ g/mLで感受性と判定された株が*vanB* 保有腸球菌で4株、*vanC1* 保有腸球菌で3株、*vanC2/C3* 保有腸球菌で2株認められた。*vanA* または*vanB* 保有腸球菌の同一菌種間でrepetitive-sequence-based PCR (rep-PCR) による分子疫学解析を実施したところ*vanA* 保有 *Enterococcus faecium* および*vanB* 保有 *Enterococcus faecalis* は施設間で菌株の相同性が低く関連性に乏しいと考えられたが、*vanB* 保有 *E. faecium* については3施設間で高い相同性を示し、菌株の施設間伝播の可能性が示唆された。愛知県下複数の施設から*van* 遺伝子保有腸球菌が検出され一部の株については施設間伝播の可能性が示唆されたこと、また、VCMのMIC値が現在の感受性判定基準では感受性と判断される株も存在していたことなどから、分子生物学的手法を用いたVREの診断を地域連携の中で実施することは感染対策上きわめて重要であると考えられた。

バンコマイシン耐性腸球菌 (vancomycin-resistant *Enterococci*: VRE) は1986年にイギリスで初めて分離されて以降、治療困難な微生物であるうえにプラスミドによる耐性遺伝子の伝播をきたす可能性もあるなど、院内感染対策上注意すべき菌として注目され続けている<sup>1)</sup>。本邦においては、感染

症新法が施行された1999年に五類感染症の全数把握疾患となって以降、届出数は年々増加傾向にあり施設内伝播やアウトブレイクの報告も散見されるようになってきた<sup>2~5)</sup>。また、施設内伝播のみならず、病院間または病院と介護施設間の患者の移動により地域でVREの検出施設が増加した

事例も報告されており<sup>6,7)</sup>、医療機関の地域連携が盛んになってきている昨今、VREの正確な疫学を知ることは地域医療においても重要な課題である。VRE感染対策として重要なのは、保菌者をもれなく速やかに発見し接触感染予防策を講じることであるが、自動分析器や選択培地など、表現型による検査のみで正確に *van* 遺伝子保有菌の検出やその遺伝型を判定することはきわめて困難である<sup>8,9)</sup>。このような背景から、当院では2008年4月から従来の細菌同定・薬剤感受性試験に加え、バンコマイシン (VCM) の最小発育阻止濃度 (MIC; minimal inhibitory concentration) 値が  $4\mu\text{g}/\text{mL}$  以上を示した腸球菌について分子生物学的手法を用いた *van* 遺伝子 (*vanA*, *vanB*, *vanC1*, *vanC2/C3*) の検索をルーチン業務として開始するとともに、近隣施設からの検査依頼も受託してきた。今回、現在までに得られた結果について解析を行ったので報告する。

## 対象と方法

2008年4月から2013年1月の期間に愛知医科大学病院 (以下、当院) で臨床分離された菌株のうち、糞便検体においてVRE選択培地に発育を認めるか、その他検体においてVCMのMIC値が  $4\mu\text{g}/\text{mL}$  以上を示した腸球菌353株および同期間に愛知県下の尾張地域、西三河地区、東三河地区の3地区8施設 (a, b, c, d, e, f, g, h) から検査依頼のあった腸球菌120株の計473株を対象とした。8施設の所属は尾張地区がa, b, c, h, 西三河地区f, 東三河地区d, e, gの分布であった。8施設はすべて急性期総合病院であり、病床数500床未満が4施設、500床以上1000床未満が3施設、1000床以上が1施設の内訳であった。

### 1. 糞便検体のVREスクリーニング

便または肛門周囲擦過スワブ検体をVRE選択

培地 (日本ベクトン・ディッキンソン) に塗布した後、 $37^\circ\text{C}$  で48時間培養を実施した。発育が認められた株については菌種同定およびMIC値測定を実施した。

### 2. 菌種同定およびVCMのMIC値測定

分離菌株の菌種同定、MIC値の測定は、全自動細菌検査システムRAISUS (日水製薬) を用い実施した。MIC値は日本化学療法学会が規定する微量液体希釈法に準拠し、VCMのMIC値が  $8\mu\text{g}/\text{mL}$  以上を示した株については、Etest<sup>®</sup> (SYSMEX bioMérieux) による判定を追加した。

### 3. *van* 遺伝子の検出

DUTKA-MALEN<sup>10)</sup> のプライマーに内部コントロールとして16SリボソームRNAを標的としたプライマー<sup>11)</sup> を加え、Multiplex PCR法にて実施した (Table 1)。ミュラー・ヒントン寒天培地に発育した腸球菌1コロニーをTES buffer (pH 8.0)  $150\mu\text{L}$  に懸濁し $100^\circ\text{C}$  にて15分間加熱した後、 $13000\text{rpm}$  で2分間遠心した上清をtemplate DNAとした。Multiplex PCR反応はAmpliTaq Gold<sup>®</sup> PCR Master Mix (Applied Biosystems) を用い、Veriti<sup>®</sup>96-Wellサーマルサイクラー (Applied Biosystems) にて $95^\circ\text{C}$  10分の後、「 $95^\circ\text{C}$  20秒、 $55^\circ\text{C}$  2分」を35サイクル施行し、最後に $74^\circ\text{C}$  5分の伸長反応を行う条件で実施した。PCR産物の確認は2%アガロースゲルを用いた電気泳動法とエチジウムブロマイド染色にて実施した。

### 4. 分子疫学解析

*vanA* および *vanB* 保有腸球菌の同一菌種について、rep-PCR法を原理とした自動細菌タイピング装置DiversiLab<sup>®</sup> system (SYSMEX bioMérieux) 用いて分子疫学解析を実施した。DNA抽出はUltraClean<sup>®</sup> Microbial DNA Isolation Kit (MO BIO Laboratories) を用いて行った。rep-PCR反応は

Table 1. PCR primers used for analysis

Amplified gene	Primer pairs sequences(5'-3')	Final conc.( $\mu$ M)	Size of PCR product (bp)	Reference
<i>vanA</i>	F GGGAAAACGACAATTGC	0.25	732	10)
	R GTACAATGCGGCCGTTA	0.25		
<i>vanB</i>	F ATGGGAAGCCGATAGTC	0.5	635	10)
	R GATTTTCGTTCTCGACC	0.5		
<i>vanC1</i>	F GGTATCAAGGAAACCTC	0.25	822	10)
	R CTTCCGCCATCATAGCT	0.25		
<i>vanC2/C3</i>	F CTCCTACGATTCTCTTG	0.5	439	10)
	R CGAGCAAGACCTTTAAG	0.5		
<i>rrs</i> (16S rRNA)	F GGATTAGATACCCTGGTAGTCC	0.016	320	11)
	R TCGTTGCGGGACTTAACCCAAC	0.016		

DiversiLab<sup>®</sup> Enterococcus kit (SYSMEX bioMérieux) を用い、Veriti<sup>®</sup>96-Well サーマルサイクラーにて94°C 2分の後、「94°C 30秒、50°C 30秒、70°C 90秒」を35サイクル施行し、最後に70°C 3分の伸長反応を行う条件で実施した。PCR産物はMicrofluidic Chipを用いAgilent 2100 Bioanalyzerにて検出、専用ソフトウェア (version 3.4) を使用しPOUNDERらの方法<sup>12)</sup> にならぬPearson correlation (PC) 法にて解析した。関連性の判定はDiversiLab Analysis Guide version 3.4に基づき、<95% similarity, 3本もしくはそれ以上のフィンガープリントの違いをDifferent (関連性なし)、>95% similarity, 1ないし2本のフィンガープリントの違いをSimilar (関連性あり)、>97% similarity, フィンガープリントの違い無しをIndistinguishable (識別不能) とした。

## 結果

### 1. 対象菌の検出状況

当院で検出された対象菌353株の内訳は、外来89株、入院264株、他施設由来120株の内訳は外

来3株、入院97株、不明20株であった。由来検体の内訳は、当院分離株では尿171株、呼吸器由来材料73株、糞便2株、膿32株、血液・カテーテル先端21株、生殖器分泌物22株、ドレーン8株、胆汁9株、腹水6株、その他9株であった。他施設依頼株の内訳は糞便93株、尿12株、膿2株、血液2株、その他6株、不明5株であった (Table 2)。

### 2. 同定菌種・VCMのMIC値測定および*van*遺伝子の検出

対象菌473株の同定菌種内訳は、*Enterococcus faecalis* 334株、*E. faecium* 121株、*E. gallinarum* 12株、*E. casseliflavus* 4株、*E. avium* 1株、*Enterococcus* sp. 1株であった。VCMのMIC内訳は4 $\mu$ g/mLが72.3% (342株)、8または16 $\mu$ g/mLが21.6% (102株)、>16 $\mu$ g/mLが5.9% (28株)、不明0.2% (1株) であった。保有遺伝子の内訳は、*vanA* 1.7% (8株)、*vanB* 22.2% (105株)、*vanB*および*vanC1* 0.2% (1株)、*vanC1* 4.4% (21株)、*vanC2/C3* 0.8% (4株)、検出せず70.6% (334株) であった。*vanA* 保有腸球菌は*E. faecalis* 1株 (f1株)、*E. faecium*

Table 2. Number of isolates in Aichi Medical University Hospital and 8 facilities in Aichi prefecture

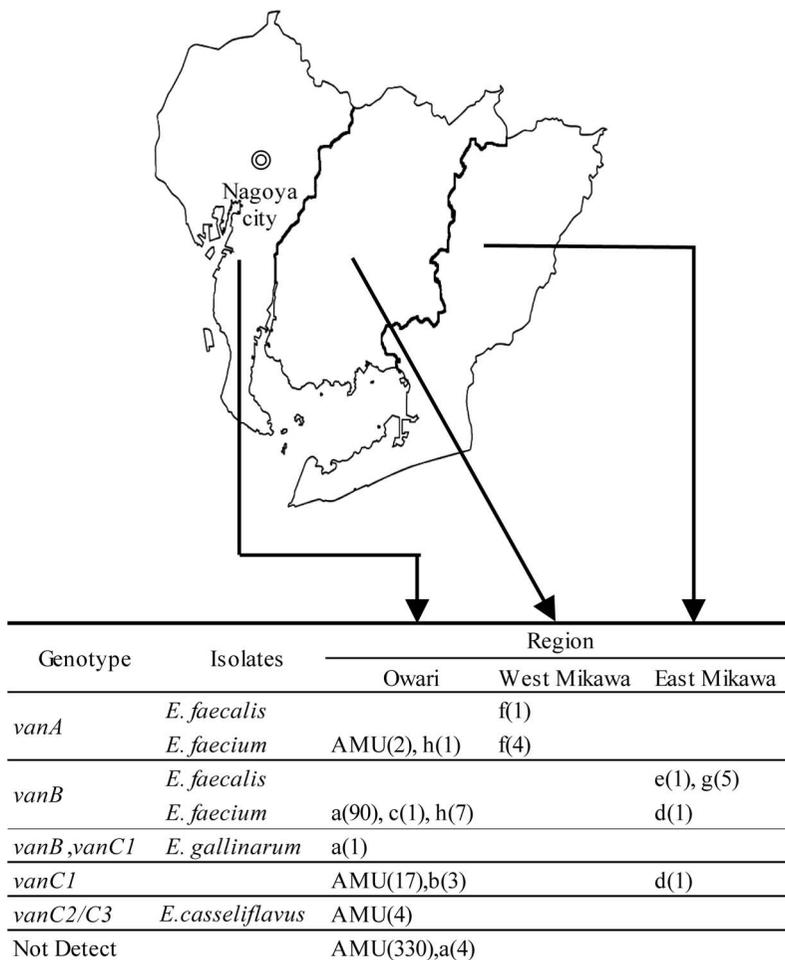
Region	Facility	van Gene	No. of strains	Patient type (No.)	Identification name (No.)	Sources (No.)
Owari	Aichi Medical University Hospital	<i>vanA</i>	2	Inpatients(2)	<i>E. faecium</i> (2)	Feces(2)
					<i>E. gallinarum</i> (7)	Urine(3),Ascites(2),Pus(1),Genital secretion(1)
		<i>vanC1</i>	17	Inpatients(14)	<i>E. faecium</i> (5)	Urine(3),Pus(1),Suction phlegm(1)
					<i>E. faecalis</i> (1)	Pus(1)
					<i>Enterococcus</i> sp.(1)	Pus(1)
					<i>E. gallinarum</i> (2)	Urine(2)
					<i>E. faecium</i> (1)	Urine(1)
					<i>vanC2/C3</i>	4
		Not Detect	330	Inpatients(244)	<i>E. faecalis</i> (240)	Urine(100),Phlegm(39),Suction phlegm(26),Pus(20),Blood(11), Genital secretion(8),Bile(8),Drain(7),Central venous catheter(5), Bronchofiber scope phlegm(4),Ascites(3),Skin(3),Saliva(2), Decubitus ulcer(1),Pharyngeal swab(1),Pituita(1),Wound gauze(1), Blood(1),Pus(1),Urine(1)
					<i>E. faecium</i> (3)	Blood(1),Pus(1),Urine(1)
<i>E. avium</i> (1)	Pus(1)					
<i>E. faecalis</i> (84)	Urine(60),Genital secretion(12),Pus(6),Blood(3),Pharyngeal swab(1), Saliva(1),Suction phlegm(1), Drain(1),Genital secretion(1)					

Table 2. (Continued)

Region	Facility	van Gene	No. of strains	Patient type (No.)	Identification name (No.)	Sources (No.)
Owari	a	<i>vanB</i>	90	Inpatients(86)	<i>E. faecium</i> (86)	Feces(75), Urine(6), Decubitus ulcer(2), Blood(1), Ascites(1), Phlegm(1)
				Outpatients(2)	<i>E. faecium</i> (2)	Feces(2)
				Unknown(2)	<i>E. faecium</i> (2)	Feces(2)
	b	Not Detect	4	Inpatient(1)	<i>E. gallinarum</i> (1)	Feces(1)
					<i>E. faecium</i> (3)	Urine(2), Feces(1)
					<i>E. faecalis</i> (1)	Feces(1)
					<i>E. gallinarum</i> (1)	Pus(1)
	c	<i>vanCI</i>	3	Inpatients(3)	<i>E. faecium</i> (1)	Blood(1)
					<i>E. faecalis</i> (1)	Urine(1)
					<i>E. faecium</i> (1)	Feces(1)
h	<i>vanB</i>	7	Unknown(7)	<i>E. faecium</i> (1)	Feces(1)	
				<i>E. faecium</i> (1)	Feces(1)	
				<i>E. faecium</i> (7)	Feces(5), Pleural effusion(1), Urine(1)	
West Mikawa	<i>vanA</i>	5	Unknown(5)	<i>E. faecium</i> (4)	Feces(3), Abdominal drain(1)	
				<i>E. faecalis</i> (1)	Feces(1)	
				<i>E. faecium</i> (1)	Urine(1)	
East Mikawa	<i>vanCI</i>	1	Inpatient(1)	<i>E. gallinarum</i> (1)	Urine(1)	
				<i>E. faecalis</i> (1)	Pus(1)	
				<i>E. faecalis</i> (5)	Unknown(5)	
TOTAL						473

**Table 3. Vancomycin resistant genes and distribution for vancomycin MIC values**

CLSI(M100-S22) interpretive standards Vancomycin MIC ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	S		I		R					No data	Total	
	4	8	16	32	64	128	256	>256	>16			>32
<i>vanA</i>								8				8
<i>vanB</i>	4	3	77	1	7				7	5	1	105
<i>vanB,C1</i>			1									1
<i>vanC1</i>	3	16	2									21
<i>vanC2/3</i>	2	2										4
Not Detect	333		1									334
Total	342	21	81	1	7			8	7	5	1	473

**Fig. 1. Regional spread of *vanA* or *vanB* positive Enterococci**

AMU: Aichi Medical University Hospital

a-h: 8 facilities in Aichi prefecture

Values in parentheses indicate the detected number of VRE.

7株（当院2株，f 4株，h 1株）の計8株で3施設から分離された。*vanB* 保有腸球菌は *E. faecalis* 6株（e 1株，g 5株），*E. faecium* 99株（a 90株，c 1株，h 7株，d 1株），*E. gallinarum* 1株（a 1株）の計106株が6施設から分離された。*vanC1* および *vanC2/C3* は種固有の染色体性遺伝子であるが，今回の同定において，*vanC1* 保有腸球菌は *E. faecalis* 2株（当院1株，b 1株），*E. faecium* 7株（当院6株，b 1株），*E. gallinarum* 11株（当院9株，b 1株，d 1株），*Enterococcus* sp. 1株（当院1株）の計21株が3施設から分離された。*vanC2/C3* 保有腸球菌は *E. casseliflavus* 4株が当院から分離された（Table 2, Table 3）。地域分布についてはFig. 1に示す。

### 3. 分子疫学解析 (Fig. 2)

#### 1) *vanA* 保有 *E. faecium*

施設fから検出されたV654株とV657株，V669株とV670株がそれぞれIndistinguishable（識別不能）と判定された。それ以外の菌株はDifferent（関連性なし）であった。

#### 2) *vanB* 保有 *E. faecalis*

施設gで検出されたV676株，V679株，V680株，V681株，V682株の5株がIndistinguishable（識別不能）と判定された。一方，施設eで検出されたV507株はDifferent（関連性なし）であった。

#### 3) *vanB* 保有 *E. faecium*

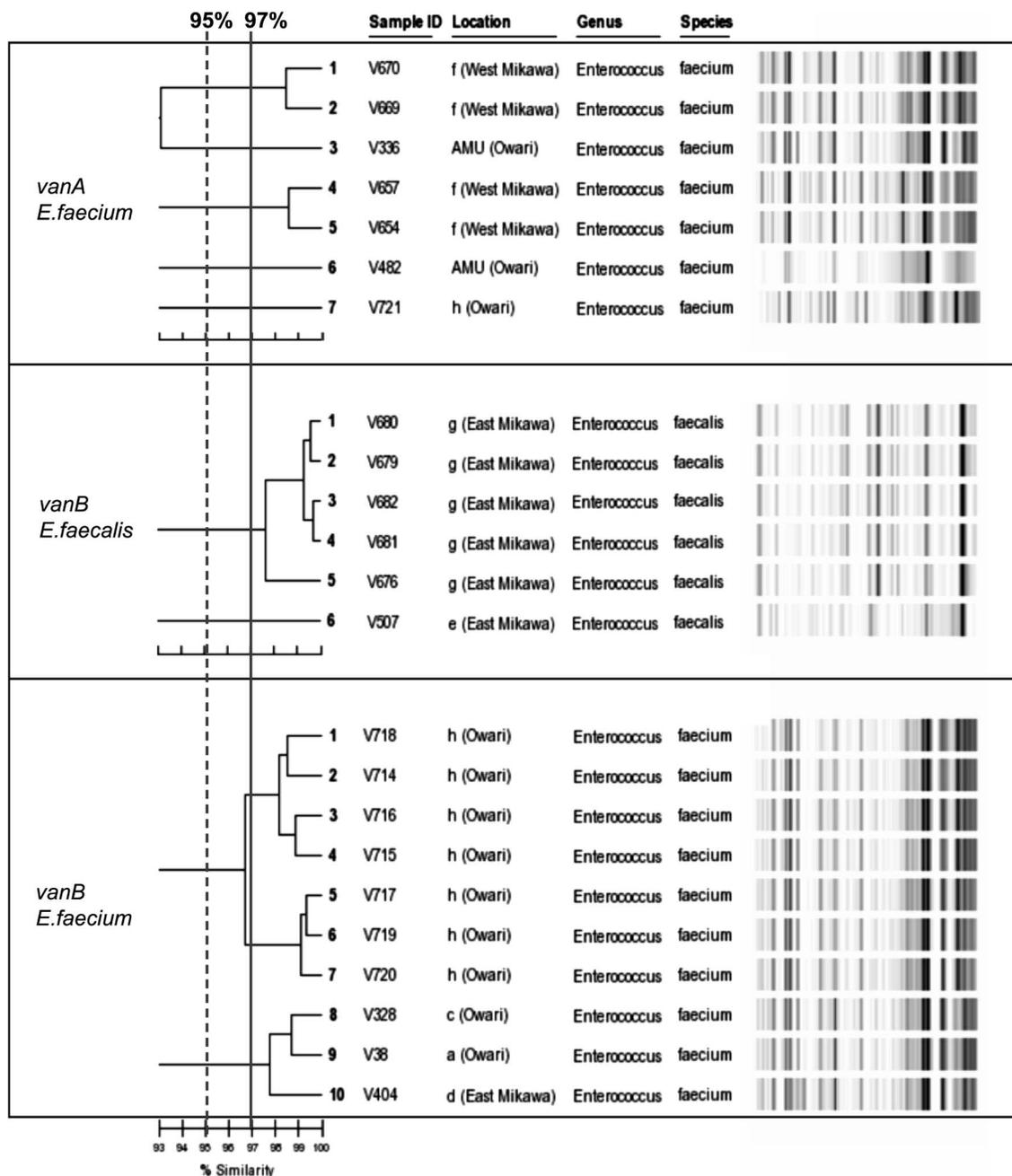
施設aで検出された*vanB* 保有 *E. faecium* に関しては，先行して実施されたパルスフィールドによる疫学解析から，単一株と結論付けられたため初回検出株のみ解析図に示した（Data not shown）。施設hで検出された7株はV714株，V715株，V716株，V718株の計4株が形成するパターンとV717株とV719株，V720株の計3株が形成するパターンに分類され，各パターン内の菌株はそれぞれIndistinguishable（識別不可）と判定された。また，両パターン間の相同性は95%以上でSimilar（関

連性あり）であった。また，施設h以外の3施設で検出されたV38株，V328株，V404株もそれぞれIndistinguishable（識別不能）の結果が得られ，施設間伝播が示唆された。

## 考察

VRE感染症は1999年に施行された感染症新法により五類感染症として全例報告が義務付けられている。その報告数は増加傾向にあり，1999年には23例だった報告数も2010年には120例に上っている<sup>2)</sup>。加えて，報告義務は感染症発症例に限られており無症状VRE保菌者に関しては実態が掴めていない現状がある。VRE感染症が発生する背景には施設内無症状保菌者の存在があることが知られており，実際には報告をはるかに上回る数の保菌者が存在している可能性がある。今回のVCM耐性遺伝子検索では，*vanA* 保有腸球菌が3施設から，*vanB* 保有腸球菌が6施設からそれぞれ検出された。そのうち5施設は複数の患者からVREが検出されており，特に施設aは環境培養からも菌が検出されるなど蔓延を認め（Data not shown），最終的に95株に上るVRE（*vanB* 保有 *E. faecium* 88株）が検出された。これらの株はパルスフィールドによる疫学解析が実施され単一株による伝播が証明されている<sup>13)</sup>。VREの感染対策として重要なのは，保菌者をもれなく速やかに発見し接触感染予防策を講じることであるが，今回我々が対象から検出した*van* 遺伝子保有腸球菌のなかには，全自動細菌検査装置にてVCMのMIC値が4 $\mu$ g/mLを示しCLSIの判定基準で感受性と判定された株が*vanB* 保有腸球菌で4株，*vanC1* 保有腸球菌で3株，*vanC2/C3* 保有腸球菌で2株認められた。

また，*vanC1* および*vanC2/C3* はそれぞれ *E. gallinarum*，*E. casseliflavus*，*E. flavescens* が染色体上に有する種固有の遺伝子であり，プラスミド

Fig. 2. DNA fingerprintings of *vanA*- and *vanB*- positive Enterococci by DiversiLab® system

AMU indicates Aichi Medical University Hospital.

伝達をきたす *vanA* や *vanB* と鑑別することは適切な感染対策を講じるために重要であるが、自動分析器にて *E. faecium* など他菌種に判定された菌株から *vanC1* が検出される例も認められた。本研究

では染色体性の *vanC1* に加え新たに *vanB* を獲得した *E. gallinarum* も検出されており、表現型だけで VRE を詳細に鑑別することは困難であると考えられた。池田ら<sup>8)</sup> や山岡ら<sup>9)</sup> も同様に自動分析

器によるMIC測定や選択培地など表現型によるVREの検出について問題を指摘している。感染症法においては、2013年4月の一部改定を受け、バンコマイシン耐性腸球菌感染症の届出基準が「分離・同定による腸球菌の検出かつ分離菌に対するVCMのMIC値が16 $\mu$ g/mL以上」の感染症例に変更となり遺伝子型の検索は不要となった。しかし、本研究において検出された*vanB*保有腸球菌のうち6.7% (7/105株)は16 $\mu$ g/mLに満たないVCMのMIC値であったことなどから、MIC値の測定のみではVREの見逃しが起こる危険性が示唆された。以上よりVRE感染症の正確な診断のために耐性遺伝子の検索を実施することはきわめて重要であると考えられた。

国内におけるVREの地域的流行については各地で大規模なサーベイランスが実施されてきているが、2000年代前半に行われた調査では濃厚な地域伝播は確認されなかった<sup>14)</sup>。しかし、2005年京都地区で複数の病院にわたるアウトブレイクが確認されて以降、医療施設間の連携における地域でのVRE感染対策が課題となっている<sup>6,7)</sup>。今回検出された*vanA*または*vanB*保有腸球菌のrep-PCR法による分子疫学解析では、*vanA*保有*E. faecium*および*vanB*保有*E. faecalis*に関しては同一施設内での伝播が強く示唆される一方、施設間での菌株の相同性は低く関連性に乏しいと考えられた。しかし、*vanB*保有*E. faecium*に関しては3施設間で菌株の伝播があった可能性が示唆された。診療報酬改定により感染対策における医療連携の重要性が高まってきた現在、薬剤耐性菌の正確な診断を地域連携の中で実施することは、感染対策上重要である。VREに関する遺伝子検査は保険点数が認められていないだけに基幹病院で遺伝子検査を実施する意義はきわめて大きいと考えられる。

## 文献

- 1) LECLERCQ, R.; E. DERLOT, J. DUVAL, *et al.*: Plasmid-mediated resistance to vancomycin and teicoplanin in *Enterococcus faecium*. N. Engl. J. Med. 319: 157~161, 1988
- 2) 国立感染症研究所ホームページ: <http://www.nih.go.jp/niid/ja/idwr/2085-ydata/1615-report-ja.html>
- 3) 前原依子, 他: 当院におけるバンコマイシン耐性腸球菌の院内伝播事例。日本環境感染学会誌23: 327~331, 2008
- 4) 浅沼秀臣, 吉崎清美, 岩井中里香, 他: 当院におけるバンコマイシン耐性腸球菌のアウトブレイクへの対応。日本環境感染学会誌27: 226~233, 2012
- 5) 森山和郎, 他: 山梨県A病院におけるVanB型バンコマイシン耐性腸球菌集団分離事例。日本環境感染学会誌21: 168~174, 2006
- 6) SHIRANO, M., *et al.*: Regional spread of *vanA*- or *vanB*-positive *Enterococcus gallinarum* in hospitals and long-term care facilities in Kyoto prefecture, Japan. Epidemiol. Infect. 139: 430~436, 2011
- 7) MATSUSHIMA, A., *et al.*: Regional spread and control of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* in Kyoto, Japan. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 31: 1095~1100, 2012
- 8) 池田 恵, 他: VanB型-バンコマイシン耐性腸球菌による局地的流行伝播の早期発見と拡散防止対策の有効性について。日本環境感染学会誌22: 203~210, 2007
- 9) 山岡一清, 他: 岐阜県下におけるバンコマイシン耐性腸球菌の検出状況とその判定に関する問題点について。日本臨床微生物学雑誌15: 77~85, 2005
- 10) DUTKA-MALEN, S.; S. EVERS & P. COURVALIN: Detection of glycopeptide resistance genotypes and identification to the species level of clinically relevant enterococci by PCR. J. Clin. Microbiol. 33: 24~27, 1995
- 11) VAN DE KLUNDERT, J. A. M. & J. S. VLIEGENTHART: PCR detection of genes coding for aminoglycoside-modifying enzymes. Diagnostic molecular microbiology: principles and

- applications. American Society for Microbiology, Washington, DC, 547~552, 1993
- 12) POUNDER, J. I.; C. K. SHUTT, B. J. SCHAECHER, *et al.*: Clinical evaluation of repetitive sequence-based polymerase chain reaction using the Diversi-Lab System for strain typing of vancomycin-resistant enterococci. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 54: 183~187, 2006
- 13) 川瀬義久: VREアウトブレイク時に発生したVREによるSSIの2症例。日本外科感染症学会誌 7: 667~671, 2010
- 14) MATSUMOTO, T., *et al.*: No regional spread of vancomycin-resistant enterococci with *vanA* or *vanB* in Kitakyushu, Japan. *J. Infect. Chemother.* 10: 331~334, 2004

---

## Epidemiological analysis for enterococci isolated in Aichi prefecture

DAISUKE SAKANASHI<sup>1)</sup>, YUKA YAMAGISHI<sup>1,2)</sup>, TAKAYOSHI SUZUKI<sup>1)</sup>, TOMOKO OHNO<sup>1)</sup>,  
ATSUKO YAMADA<sup>1)</sup>, HIROYUKI SUEMATSU<sup>1)</sup> and HIROSHIGE MIKAMO<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup> Department of Infection Control and Prevention,  
Aichi Medical University Hospital

<sup>2)</sup> Department of Clinical Infectious Diseases,  
Aichi Medical University Hospital

We investigated vancomycin-resistant genes for clinical isolates of 353 vancomycin-resistant enterococci in the Aichi Medical University hospital and 120 vancomycin-resistant enterococci from the 8 facilities in Aichi prefecture between April 2008 and January 2013. We detected 8, 105, 21 and 4 strains of enterococci with *vanA*, *vanB*, *vanC1* and *vanC2/C3*, respectively. Among enterococci with vancomycin-resistant genes, we detected 4, 3 and 2 enterococci of vancomycin MIC level 4 µg/mL with *vanB*, *vanC1* and *vanC2/C3*, respectively. According to molecular analysis using repetitive-sequence-based PCR (rep-PCR) for enterococci with *vanA* or *vanB* genes, although there have been no similarity for *Enterococcus faecium* with *vanA* and *Enterococcus faecalis* with *vanB*, high similarity was shown among *E. faecium* with *vanB*, which might be nosocomial spread in each hospital. These results showed that molecular analysis for vancomycin-resistant genes would be useful for the management of healthcare-associated infections.