Osaka University Knowledge Archive

Title	日本人デンタルプラーク中のアモキシシリン耐性レンサ球菌の分布
Author(s)	増田, 勝彦
Citation	大阪大学, 2012, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/59259
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【32】

氏　　名	増　田　勝　彦（ます　だ　かつ　ひこ）
博士の専攻分野の名称	博　士（歯学）
学　位　記　番　号	第　２５０４０　号
学位授与年月日	平成 24 年 3 月 22 日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当 歯学研究科分子病態口腔科学専攻
学　位　論　文　名	**日本人デンタルプラーク中のアモキシシリン耐性レンサ球菌の分布**
論文審査委員	（主査） 教　授　大嶋　　隆 （副査） 教　授　由良　義明　　准教授　北村　正博　　講　師　佐伯万騎男

論文内容の要旨

【緒言】

感染性心内膜炎は，歯科領域でよく知られている全身性の感染症である．先天性心疾患などの患者において侵襲的な歯科治療を行う際には，感染性心内膜炎の発症予防のために，抗生物質による術前投与が推奨されている．日常臨床では，処置１時間前にアモキシシリ

ンを服用してもらい，血中濃度が最大に達した時点で処置を開始することが多い．近年，ペニシリン耐性菌により抗生物質による術前投与を行ったにもかかわらず心内膜炎を発症したとの報告もある．しかし，口腔細菌におけるアモキシシリン感受性に関する報告は少ない．本研究では，日本人のデンタルプラーク中に存在する口腔細菌におけるアモキシシリン感受性に関して検討することにした．

【材料および方法】

１．対象と検体の採取

小児・思春期の対象者は，2008 年 7 月ー 2010 年 3 月の期間に，大阪大学歯学部附属病院小児歯科外来および守口市増田歯科医院来院した 253人（男性125人，女性128人）の患者である．このうち複数回来院した対象者からは，それぞれの日でサンプリングを行い，合計344 サンプルを得た．また，成人に関しては，2010年12月ー 2011年5月の期間に，大阪大学歯学部学生および歯学部事務系職員であった 122人（男性 58人，女性 62人）を対象とした．本研究は，大阪大学大学院歯学研究科倫理委員会の承認後，協力者の同意を得て行った．分析対象者からは全身疾患を有する人および 3 ヶ月以内に抗生物質を服用した人は除外した．対象者には，まず軽くうがいをしてもらった後，滅菌エキスカベーターを用いて上下顎全残存歯面よりデンタルプラークを採取した．

２．アモキシシリン耐性菌の分離と最小発育阻止濃度の決定

採取したデンタルプラークは，滅菌生理食塩水に懸濁し，32 μg/ml のアモキシシリンを添加した Mitis-Salivarius (MS) 寒天培地に播種し，37 ℃ で48 時間培養した．培養後，寒天平板上に認められたすべてのコロニーを分離した．分離菌株のアモキシシリンに対する最小発育阻止濃（Minumum Inhibitory Concentration; MIC） は臨床検査標準協会（CLSI）の Macro-dilution 法を用いて決定した．

３．アモキシシリン耐性菌種の特定

分離されたアモキシシリン耐性菌株を，Brain Heart Infusion（BHI）液体培地で 37 ℃ 18 時間培養し，染色体 DNA を抽出した．その後，16SrRNA の全長をコードする遺伝子を PCR 法増幅し，その PCR 産物を，pGEM-T Easy ベクターにライゲーションを行い，大腸菌に形質転換した．その大腸菌を培養してプラスミド抽出を行い，DNA シークエンサーを用いて遺伝子配列を決定した．特定された遺伝子配列は，DNA Database of Japan の検索ツールを用いて相同性を検索し，99% 以上の一致をもって菌種の特定を行った．

４．菌株間の遺伝子型の比較

菌株間の遺伝子型の比較には，Random amplified polymorphic DNA（RAPD）法を用いて，各サンプル間のフィンガープリントパターンを比較し，その一致・不一致をもって，同じ遺伝子型の株であるかどうかを検討した．

【結果】

１．アモキシシリン耐性菌株の検出頻度と検出菌種

253 人の小児・思春期の対象者のうち 14 人から MIC が 16 μg/mL 以上のアモキシシリン耐性菌株が分離された．また，トータル 344 サンプルから 18 株の耐性菌株が分離された．耐性菌株は， *Streptococcus oralis* が 8 株，*Streptococcus mitis* が 5 株であり，その他にも*Streptococcus salivarius* や *Streptococcus sanuguinis* などが存在していた．一方成人においては，122 人うち 5 人から 7 株のアモキシシリン耐性株が分離され，その菌種は *S. sanguinins* および *S. oralis* であった．

２．複数回サンプリングした被験者におけるアモキシシリン耐性菌株

複数回サンプルを提供いただいた小児 59 名のうち 8 名から MIC が 16 μg/mL 以上のアモキシシリン耐性菌株が分離された．そのうち 2 名では耐性菌が複数回分離され，1 名は違う遺伝子型の *S. mitis* が 2 回分離されたが，もう 1 名からは 3 度，同一の遺伝子型 *S. oralis* が分離された．

３．アモキシシリン耐性菌株の他の抗生物質に対する感受性

小児から分離されたアモキシシリン耐性株では，アンピシリンやペニシリンG，エリスロマイシン対しても同様に高い MIC 値を示したが，どの菌株もレボフロキサシンに対しては耐性を示さなかった．それに対して成人からの分離株では，アンピシリンやペニシリンG，エリスロマイシンで高い MIC 値を示すだけでなく，レボフロキサシンに対しても高い MIC 値を示した．

【考察】

本研究の結果，アモキシシリン耐性の口腔レンサ球菌が，小児と成人の両世代おいてほぼ 5 パーセントの頻度で検出されたが，その耐性菌株は定着しているというよりも一過性に存在している可能性の高いことが示された．本研究では，健常者を対象に検討を加えており，今後は心内膜炎発症高リスクの対象における調査が必要と思われる．

論文審査の結果の要旨

本研究は，日本人の口腔内にアモキシシリン耐性レンサ球菌がどの程度存在するかを，健常な小児および成人のデンタルプラークを用いて検討したものである．その結果，健常な日本人におけるアモキシシリン耐性のレンサ球菌保有者は約 5 パーセントであり，これらの耐性菌株は，定着しているというよりも一過性に存在している可能性の高いことが示された．

以上の研究結果は，健常な日本人の口腔に存在するアモキシシリン耐性レンサ球菌の現状を明らかにするとともに，感染性心内膜炎の予防に重要な示唆を与えるものであり，博士（歯学）の学位授与に値するものと認める．