




学位論文審査の結果の要旨

審査区分 ①・論	第 669号	氏名	KARTIKA AFRIDA FAUZIA
審査委員会委員		主査氏名	伊東 弘樹 
		副査氏名	平松 和史 
		副査氏名	小堀川 亨 
<p>論文題目                      Biofilm Formation and Antibiotic Resistance Phenotype of <i>Helicobacter pylori</i> Clinical Isolates                      (ヘリコバクター・ピロリ臨床分離株のバイオフィルム形成と抗菌薬耐性に関する表現型)</p> <p>論文掲載雑誌名                      Toxins</p> <p>論文要旨                      インドネシアにおけるヘリコバクター・ピロリ菌のクラリスロマイシンに対する耐性率は15%以下であるが、治療成功率は67.6%とやや乖離がある。申請者はその要因として、菌が形成するバイオフィルムに着目した。そこで本研究では、インドネシア由来のヘリコバクター・ピロリ菌の臨床分離株を用いて、バイオフィルム形成と抗菌薬耐性の関連性について評価した。101の浮遊株の抗菌薬感受性を測定するために、Etestを用いてアモキシシリン、クラリスロマイシン、レボフロキサシン、メトロニダゾールおよびテトラサイクリンの最小発育阻止濃度(MIC)を算出した。また、バイオフィルムについてはクリスタルバイオレットを用いて定量的に評価した。最小バイオフィルム抑制濃度は抗菌薬に曝露後のバイオフィルム内における菌の生存率を測定することで算出した。93.1%(94/101株)と臨床分離株の大多数はバイオフィルムを形成しており、そのうち24.5%についてはOD<sub>595</sub>が0.4を上回る強力なバイオフィルムを形成していた。浮遊株については、耐性株と感受性株のバイオフィルム産生量は同程度であった。MBECの測定により明らかとなった耐性株の割合は、全ての抗菌薬でOD<sub>595</sub>が0.4を上回る群が高値を示し、特にクラリスロマイシンが顕著であった(p=0.002)。アモキシシリンは47.6%、テトラサイクリンは57.1%、クラリスロマイシンは19.0%、レボフロキサシンは38.1%、メトロニダゾールは38.1%の株で、MIC値を参照すると感受性株に該当する一方で、MBEC値では耐性株であった。以上の結果より、ヘリコバクター・ピロリ菌におけるバイオフィルムの形成は菌の生存と抗菌薬に対する耐性を増加させている可能性が考えられた。バイオフィルムに関連した抗菌薬耐性は、抗菌薬の感受性試験によって評価する必要があると示唆した。</p> <p>本研究は、バイオフィルム形成と抗菌薬耐性の関連性について明らかにし、今後、バイオフィルムの耐性メカニズムの解明が期待されるため、審査員の合議により本論文は学位論文に値するものと判定した。</p>			

最終試験  
の結果の要旨  
~~学力の確認~~

審査区分 (課)・論	第 669号	氏名	KARTIKA AFRIDA FAUZIA
審査委員会委員	主査氏名	伊東 弘樹 (伊東)	
	副査氏名	平松 和史 (平松)	
	副査氏名	小淵 文 (小淵)	
<p>学位申請者は本論文の公開発表を行い、各審査委員から研究の目的、方法、結果、考察について以下の質問を受けた。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. インドネシアにおける標準的な<i>H. pylori</i>感染症の治療はどのような治療か。</li> <li>2. <i>H. pylori</i>は胃のなかで、どの程度の頻度でバイオフィーム形成をしているのか。</li> <li>3. <i>H. pylori</i>のバイオフィームは胃のどこにできるのか。潰瘍などの病変部位だけにできるのか、正常胃にもみられるのか。</li> <li>4. インドネシアではクラリスロマイシンの耐性率は10%と低いにもかかわらず治癒率が67.6%である。今回評価した他の4剤については、耐性率と治癒率に乖離はないか。</li> <li>5. 薬剤感受性試験で、Etestを選択した理由は何か。</li> <li>6. バイオフィームが形成されると何故OD<sub>595</sub>の数値が上昇するのか。</li> <li>7. MICとMBECで抗生物質の投与時間が異なるのは何故か。時間の違いが研究結果に影響を与えているか。</li> <li>8. 通常、細菌は栄養価の低い培地でバイオフィームを形成する。本検討では栄養価の高い培地で検討がなされているが、栄養価の低い培地で検討を行ったか。</li> <li>9. バイオフィーム形成量を測定する実験で1株あたり何回の実験を行ったか。実験ごとにばらつきが大きくなかったか。</li> <li>10. 分離菌のバイオフィーム産生能の検討において、分離された地域間で産生能の偏りはなかったか。</li> <li>11. ブレイクポイントの2倍の濃度で抗菌薬のバイオフィームへの効果を検討しているが、それ以上の濃度での検討は行っているか。</li> <li>12. Figure2で、浮遊菌で抗生物質感受性が高いものほどバイオフィームを形成しているように見えるが、なぜか。</li> <li>13. 多剤耐性分離株のバイオフィーム形成が弱いのはなぜか。</li> <li>14. <i>H. pylori</i>菌の増殖速度とバイオフィーム形成能に関連がみられるか。</li> <li>15. バイオフィーム形成の<i>H. pylori</i>感染症に対して、どのような治療が考えられるか。</li> <li>16. <i>H. pylori</i>のバイオフィーム形成による薬剤耐性を克服するために、抗生物質の濃度を上げる方法はないか。</li> </ol> <p>これらの質疑に対して、申請者は概ね適切に回答した。よって審査委員の合議の結果、申請者は学位取得有資格者と認定した。</p>			

(注) 不要の文字は2本線で抹消すること

学 位 論 文 要 旨

氏名 Kartika Afrida Fauzia

論 文 題 目

.....  
Biofilm Formation and Antibiotic Resistance Phenotype of *Helicobacter pylori*  
Clinical Isolates  
.....

.....  
ヘリコバクター・ピロリ臨床分離株のバイオフィルム形成と抗菌薬耐性に関  
する表現型  
.....

要 旨

.....  
We evaluated biofilm formation of clinical *Helicobacter pylori* isolates from  
Indonesia and its relation to antibiotic resistance. We determined the minimum  
inhibition concentration (MIC) of amoxicillin, clarithromycin, levofloxacin,  
metronidazole and tetracycline by the Etest to measure the planktonic susceptibility  
of 101 *H. pylori* strains. Biofilms were quantified by the crystal violet method. The  
minimum biofilm eradication concentration (MBEC) was obtained by measuring the  
survival of bacteria in a biofilm after exposure to antibiotics. The majority of the  
strains formed a biofilm (93.1% (94/101)), including weak (75.5%)  
.....

and strong (24.5%) biofilm-formers. Planktonic resistant and sensitive strains produced relatively equal amounts of biofilms. The resistance proportion, shown by the MBEC measurement, was higher in the strong biofilm group for all antibiotics compared to the weak biofilm group, especially for clarithromycin ( $p = 0.002$ ). Several cases showed sensitivity by the MIC measurement, but resistance according to the MBEC measurements (amoxicillin, 47.6%; tetracycline, 57.1%; clarithromycin, 19.0%; levofloxacin, 38.1%; and metronidazole 38.1%). Thus, biofilm formation may increase the survival of *H. pylori* and its resistance to antibiotics. Biofilm-related antibiotic resistance should be evaluated with antibiotic susceptibility.

.....

.....