

【原著・基礎】

ヒト唾液より分離した嫌気性グラム陰性桿菌の薬剤感受性

木下 智¹⁾・尾上 孝利²⁾・佐野 寿哉¹⁾・杉原 圭子³⁾・大宮 真紀³⁾
 松本 和浩¹⁾・西崎 健生¹⁾・栗林 信仁¹⁾・山本 憲二¹⁾・田伏 信¹⁾
 村田 雄一¹⁾・石川 英雄¹⁾・小西 康三²⁾・佐川 寛典²⁾・白数 力也¹⁾

¹⁾ 大阪歯科大学口腔外科学第1講座*

²⁾ 同 細菌学講座, ³⁾ 同 臨床歯科学研究所

(平成9年8月25日受付・平成10年4月23日受理)

菌性感染症の化学療法に用いる抗菌薬を検討するため、ヒト唾液常在菌叢より嫌気性グラム陰性桿菌を分離し、ampicillin (ABPC), cefaclor (CCL), ceftamandole (CFTM) および ofloxacin (OFLX) の MIC と β -lactamase 産生性を調べた。嫌気性グラム陰性桿菌は 50 名中 41 名より合計 77 株得られ、同定の結果、*Prevotella melaninogenica* や *Prevotella intermedia* などの黒色色素産生性グラム陰性桿菌が多数を占めた。*Prevotella*, *Porphyromonas gingivalis* および *Bacteroides ureolyticus* に対する各抗菌薬の MIC 分布域は広く、CCL, CFTM および OFLX の MIC 分布は 2 峰性を示すことより耐性限界値を定め、この値を超えて発育する株を耐性菌とした。耐性限界値は CCL, CFTM および OFLX でそれぞれ 32, 16 および 16 $\mu\text{g/ml}$ であった。また、ABPC では 3 峰性を示し、耐性限界値は 1 $\mu\text{g/ml}$ で、16 $\mu\text{g/ml}$ 以下を中等度耐性菌、16 $\mu\text{g/ml}$ を超えるものを高度耐性菌とした。*Fusobacterium* sp. や未同定株も同様に MIC 分布から耐性限界を定めて耐性菌を分離した。耐性限界値は *Fusobacterium* sp. では CCL で 16 $\mu\text{g/ml}$ を示し、未同定株では ABPC, CCL, CFTM および OFLX でそれぞれ 64, 16, 32 および 16 $\mu\text{g/ml}$ であった。耐性菌は合計 41 株分離され、1 薬剤耐性が 16 株、2 薬剤耐性が 8 株、3 薬剤耐性が 16 株および 4 薬剤耐性が 1 株であった。 β -Lactamase 産生菌は 32 株検出された。そのうち 3 株は 3 種 β -lactam 薬に感受性であった。OFLX に耐性を示す菌株のうち 1 株から β -lactamase が検出されたが、 β -lactam 薬耐性は示さなかった。5 株の OFLX 耐性菌は β -lactam 薬にも耐性を示した。以上の事実は口腔常在菌叢である唾液中に β -lactam 薬耐性、 β -lactamase 産生性あるいは OFLX 耐性の嫌気性グラム陰性桿菌が生息しており、内因感染症である菌性感染症に対して化学療法を実施するときは、注意深く抗菌薬を決定し用いなければならないことを示唆している。

Key words: oral normal microbial flora, anaerobe gram-negative rod, odontogenic infection, β -lactam antibiotic resistance, ofloxacin resistance

菌性感染症は内因感染症であるため、病巣に存在する細菌は口腔常在菌叢に由来し、宿主の抵抗性と細菌の病原性とのバランスが崩れたときに発症する¹⁾。これまでに、菌性感染症の 1 つである閉鎖性膿瘍内容物から嫌気性グラム陰性桿菌の *Prevotella* や *Bacteroides* などの細菌が優位に分離され^{2,3)} 起炎菌と推定されている。菌性感染症の抗菌薬療法は通常、臨床症状の強い炎症初期より行われる。しかし、これまでの研究では菌性感染症がかなり進行した状態、すなわち膿瘍形成時の病巣から細菌を分離している。このため膿瘍内から分離した菌株は菌性感染症の発症・増悪の過程で局所環境条件により病原酵素活性や細胞形態に変化が生じている⁴⁾。したがって、投薬を開始する時期にターゲットとなる細菌は、種々の変化をおこす以前の健全な口腔に常在する菌株に近いものであると考えられるが、この時期の病巣から細菌

を分離することは困難であり治療は empiric therapy として行うことになる⁵⁾。Oral streptococci や *Peptostreptococcus* などのグラム陽性レンサ球菌に対して歯科で頻繁に使用される抗菌薬^{6,7)} は優れた抗菌性を示すことが報告されている⁸⁾。一方、口腔常在嫌気性グラム陰性桿菌の薬剤感受性は、膿瘍内容物より分離した菌株で調べられている⁹⁾。しかし、菌性感染症発症前の健全な口腔に存在する菌株の感受性については *Prevotella intermedia* と *Porphyromonas gingivalis* に限定した報告¹⁰⁾ や、薬剤加培地で得られた耐性菌¹⁰⁾ での報告のみで、非選択培地によるすべての口腔常在嫌気性グラム陰性桿菌では明らかにされていない。このため健全な口腔常在菌叢中の嫌気性グラム陰性桿菌の薬剤感受性と β -lactamase 産生性を明らかにすることは、菌性感染症発症時(炎症初期)の empiric therapy に使用する抗菌薬選択の

重要な目安になる。

本研究では、健常な口腔常在菌叢より嫌気性グラム陰性桿菌を分離し、歯科で頻繁に用いられる経口抗菌薬に対する薬剤感受性および β -lactamase 産生性を調べた。

I. 材料および方法

1. 供試菌株の分離法

本研究の主旨を説明し、同意を得た成人ボランティア 50 名より安静時唾液 1 ml を滅菌試験管に採取し、ただちに anaero-box (平沢製作所, 東京) 内に搬入した。このうちの 0.5 ml をあらかじめ用意している reduced transport fluid¹¹⁾ (4.5 ml を試験管に入れ滅菌したもの) を用いて 10^{-10} まで 10 倍連続希釈した。この希釈液 0.1 ml を CDC 処方嫌気性菌用血液寒天培地¹²⁾ (血液寒天培地) に塗抹し、48 時間嫌気培養後、100 個前後のコロニーの発育がみられる平板から肉眼的に形態、大きさおよび色調の差異がみられるコロニーを選択し釣菌・分離した。ついで、分離した菌株のグラム染色性および酸素感受性試験結果から、嫌気性グラム陰性桿菌のみをさらに選択し実験に供試した。

2. 同定法

血液寒天培地で 48 時間嫌気培養した菌株を用い、Rapid ANA II System (Innovative Diagnostic Systems, U.S.A.) にて同定した¹³⁾。

3. β -Lactamase 産生性の判定法

供試菌を hemin, L-cystine, vitamin K₁ および 5% yeast extract (DIFCO, U.S.A.) 添加 tripticase soy broth (Becton Dickinson, U.S.A.) で発育させ、これに nitrocefin (oxid, England) を滴下し、赤変したものを β -lactamase 産生性陽性とした。

4. MIC

供試菌に対する抗菌薬の MIC を日本化学療法学会標準法の微量液体希釈法¹⁴⁾ にて GAM broth (日水製薬, 東京) を用いて測定した。抗菌薬は β -lactam 薬の

ampicillin (ABPC, 明治製薬), cefaclor (CCL, 塩野義製薬) および ceftam (CFTM, 富山化学工業) とニューキノロン薬の ofloxacin (OFLX, 第一製薬) を使用した。

各抗菌薬の MIC 分布より、耐性限界値を推定し、この値を越えて発育する菌株を耐性菌とした。

II. 結 果

1. 分離細菌種

50 名で合計 221 個のコロニーを調査し、そのうち嫌気性グラム陰性桿菌は 41 名より 77 株分離された。これら菌株を同定したところ、*Prevotella* が 68.8%, *Fusobacterium* が 7.8%, 未同定株が 20.8% であった。*Prevotella* では *Prevotella melaninogenica* がもっとも多く 33.8%, ついで *P. intermedia* が 18.2% 検出された (Table 1)。

2. β -Lactamase 産生性

β -Lactamase 産生菌は合計 32 株 (41.6%) 検出された。そのうち *P. melaninogenica* が 19 株 (73.1%), *P. intermedia* が 4 株 (28.6%), *Prevotella corporis* が 4 株 (57.1%) であった。*Prevotella oris*, *Prevotella buccae*, *Fusobacterium* sp. では β -lactamase 産生菌がそれぞれ 1 株、未同定株では 2 株が分離された (Table 1)。

3. MIC

1) *Prevotella*, *Porphyromonas gingivalis* および *Bacteroides ureolyticus*

供試した *Prevotella* 53 株, *P. gingivalis* および *B. ureolyticus* 各 1 株に対する CCL, CFTM および OFLX の MIC 分布はいずれも 2 峰性を示した (Fig. 1)。これら MIC 分布から耐性限界値を推定すると CCL, CFTM および OFLX ではそれぞれ 32, 16 および 16 μ g/ml であり、この値を超えて発育する菌株を耐性菌として耐性菌株数を求めるとそれぞれ 20, 14 およ

Table 1. Distribution of anaerobic gram-negative bacteria in saliva

Species	Number of isolates	β -Lactamase producers	
		number of strains	percentage
<i>Prevotella melaninogenica</i>	26	19	73.1
<i>P. intermedia</i>	14	4	28.6
<i>P. corporis</i>	7	4	57.1
<i>P. denticola</i>	2		
<i>P. buccalis</i>	1		
<i>P. oris</i>	1	1	(100)
<i>P. buccae</i>	1	1	(100)
<i>P. disiens</i>	1		
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	1		
<i>Bacteroides ureolyticus</i>	1		
<i>Fusobacterium</i> sp.	6	1	16.7
Unidentified	16	2	12.5
Total	77	32	41.6

び4株であった。ABPCのMIC分布は3峰性を示し、耐性限界値は $1\ \mu\text{g/ml}$ と推定され、 $16\ \mu\text{g/ml}$ 以下が中等度耐性菌、 $16\ \mu\text{g/ml}$ を越えるものが高度耐性菌と考えられる (Fig. 1)。耐性菌は28株認められた。

2) *Fusobacterium* sp. および未同定株

Fusobacterium sp. 6株に対する各抗菌薬のMIC分布はCCLでは広く分布したものの、ABPC、CFTMおよびOFLXでは1~3段階内に集束した (Fig. 2)。CCLではMIC分布より耐性限界値が $4\ \mu\text{g/ml}$ と推定

され、2株の耐性菌が検出されたが、他の抗菌薬では耐性菌は認められなかった。

未同定株16株に対する各抗菌薬のMIC分布域は広く、いずれの薬剤も2峰性を示した (Fig. 3)。これらのMIC分布より耐性限界値を推定すると、ABPC、CCL、CFTMおよびOFLXでそれぞれ64、16、32および $16\ \mu\text{g/ml}$ であり、耐性菌数はそれぞれ2、6、3および5株であった。

4. 耐性型

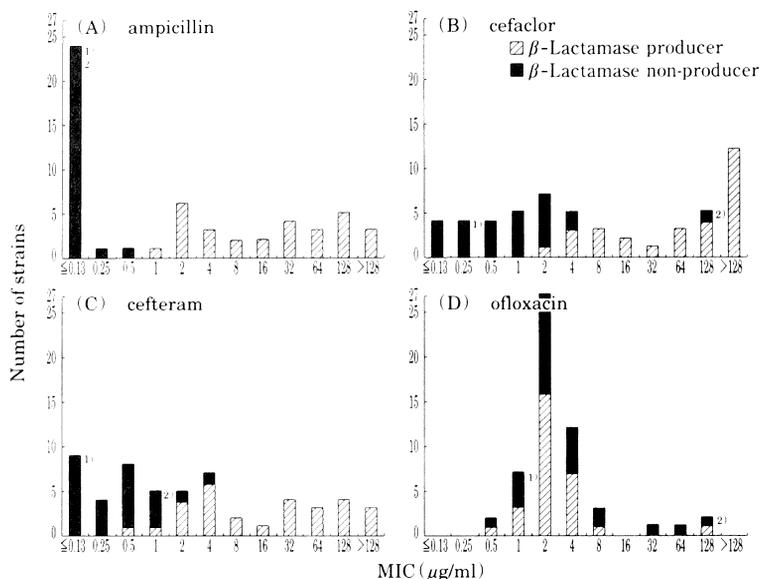


Fig. 1. MIC of antimicrobial agents against *Prevotella* (53 strains), *Porphyromonas gingivalis* (1 strain) and *Bacteroides ureolyticus* (1 strain) isolated from saliva and relation between MIC and β -lactamase production.

1) *P. gingivalis*, 2) *B. ureolyticus*

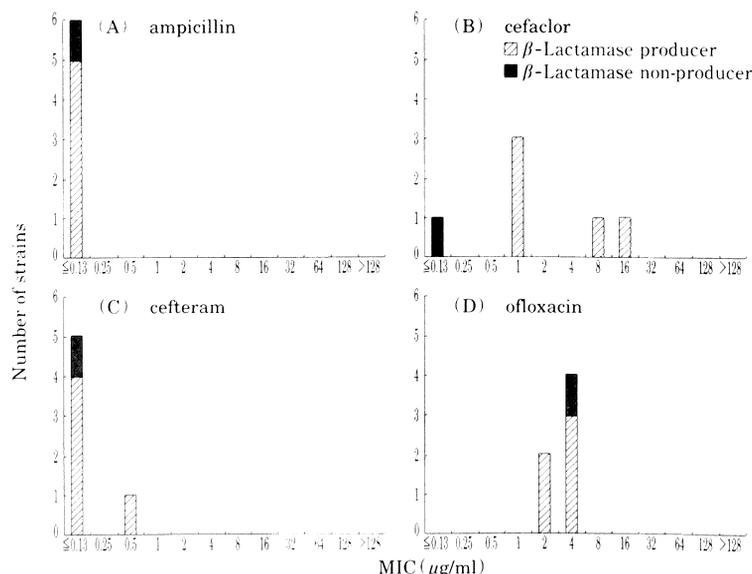


Fig. 2. MIC of antimicrobial agents against *Fusobacterium* sp. (6 strains) isolated from saliva and relation between MIC and β -lactamase production.

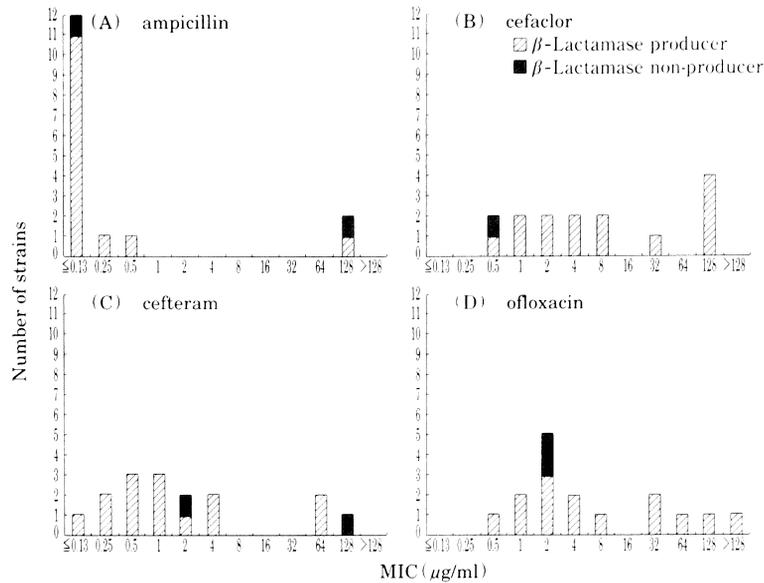


Fig. 3. MIC of antimicrobial agents against unidentified strain (16 strains) isolated from saliva and relation between MIC and β -lactamase production.

β -Lactam 薬耐性菌および OFLX 耐性菌は合計 41 株分離された。このうち β -lactam 薬耐性菌は 37 株であり、ABPC のみに耐性を示す菌株が 9 株、CCL のみに耐性を示す菌株が 6 株、ABPC と CCL に耐性を示す菌株が 5 株、CCL と CFTM に耐性を示す菌株が 1 株そして 3 種 β -lactam 薬ともに耐性を示す菌株が 16 株認められた (Table 2)。 β -Lactam 薬耐性菌 37 株のうち 29 株は β -lactamase を産生しており、なかでも ABPC 耐性菌は 30 株のうち 1 株を除く 29 株が β -lactamase 産生菌であった。しかし β -lactamase 産生菌 32 株のうち 3 株は β -lactam 薬に感受性を示した。 β -Lactamase 産生性・ β -lactam 薬耐性菌には *P. melaninogenica*, *P. intermedia*, *P. corpolis*, *P. buccae*, *P. oris* と未同定株が含まれていた。 β -Lactamase 非産生性・ β -lactam 薬耐性菌には *Fuso-*

bacterium sp., *B. ureolyticus* と未同定株が含まれていた。

OFLX 耐性菌は 9 株であり、*P. intermedia*, *P. corpolis*, *P. disiens*, *B. ureolyticus* と未同定株が含まれていた (Table 3)。そのうち OFLX のみに耐性を示す菌株が 4 株であった。残りの 5 株は β -lactam 薬にも耐性を示し、その内訳は CCL にも耐性を示す菌株が 3 株、CCL と CFTM にも耐性を示す菌株と 3 種 β -lactam 薬にも耐性を示す菌株がそれぞれ 1 株ずつであった。

III. 考 察

歯科領域における種々の抗菌薬の使用目的は、観血的処置後の全身および局所感染予防と菌性感染症の治療である¹⁵⁾。前者では膿瘍形成能を有し、抜歯後の血液から頻繁に分離される主要口腔常在菌の oral streptococci や *Peptostreptococcus* などのグラム陽性レンサ球菌¹⁶⁾ に有効な抗菌薬の投与が必要である。後者では発

Table 2. Classification of β -lactams-resistant (37 strains) or sensitive (40 strains) bacteria and relation of β -lactamase producers

Resistant or sensitive	Total number of strains (Number of β -lactamase producers)	Species (Number of strains, number of β -lactamase producers)
β -Lactams-resistant		
ABPC	9 (9)	<i>P. melaninogenica</i> (5, 5), <i>P. intermedia</i> (2, 2), <i>P. corpolis</i> (2, 2)
CCL	6 (0)	<i>Fusobacterium</i> sp. (2, 0), <i>B. ureolyticus</i> (1, 0), unidentified (3, 0)
ABPC, CCL	5 (5)	<i>P. melaninogenica</i> (4, 4), <i>P. corpolis</i> (1, 1)
CCL, CFTM	1 (0)	unidentified (1, 0)
ABPC, CCL, CFTM	16 (15)	<i>P. melaninogenica</i> (10, 10), <i>P. intermedia</i> (2, 2), <i>P. buccae</i> (1, 1), <i>P. oris</i> (1, 1), unidentified (2, 1)
β -Lactams-sensitive	40 (3)	<i>P. intermedia</i> (10, 0), <i>P. melaninogenica</i> (7, 0), <i>P. corpolis</i> (4, 1), <i>Fusobacterium</i> sp. (4, 1), <i>P. denticola</i> (2, 0), <i>P. buccalis</i> (1, 1), <i>P. disiens</i> (1, 0), <i>P. gingivalis</i> (1, 0), unidentified (10, 1)

Table 3. Classification of ofloxacin-resistant bacteria (9 strains) and relation between ofloxacin and β -lactams resistance

Type of resistance	Total number of strains (Number of β -lactamase producers)	Species (Number of strains, number of β -lactamase producers)
OFLX	4 (1)	<i>P. intermedia</i> (1, 0), <i>P. corpolis</i> (1, 1), <i>P. disiens</i> (1, 0), unidentified (1, 0)
OFLX, CCL	3 (0)	<i>B. ureolyticus</i> (1, 0), unidentified (2, 0)
OFLX, CCL, CFTM	1 (0)	unidentified (1, 0)
OFLX, ABPC, CCL, CFTM	1 (0)	unidentified (1, 0)

OFLX: ofloxacin, CCL: cefaclor, CFTM: ceftemam, ABPC: ampicillin

生機序¹⁷から考えるとグラム陽性レンサ球菌のみならず、菌性感染症病巣から優位に分離される嫌気性グラム陰性桿菌²⁻⁴にも有効な抗菌薬を投与する必要がある。菌性感染症から分離される嫌気性グラム陰性桿菌は口腔常在菌に由来し、耐性菌はそれらがなんらかの原因で耐性化したものである。

本研究で唾液より嫌気性グラム陰性桿菌を分離 同定したところ *P. melaninogenica* がもっとも多く、ついで *P. intermedia* などの黒色素産生性グラム陰性桿菌 (black pigmented gram-negative rod, BPGNR) が多数分離された。

本研究では、ABPC, CCL, CFTM および OFLX を用いて耐性を調べたが、これら 1~4 薬剤に対し耐性を示す菌株が多く存在した。これは、供試細菌が常在菌であるためさまざまな感染症の治療や予防のために投与された抗菌薬にさらされた結果と考えられる。本研究で得られた β -lactamase 産生菌は *P. melaninogenica* で 73.1%, *P. intermedia* で 28.6%, 全供試嫌気性グラム陰性桿菌では 41.6% であった。この値は Jacobs ら¹⁸ が臨床分離 *P. melaninogenica* の 45%, *P. intermedia* の 40%, *Prevotella* 全体で 62% が β -lactamase を産生するとの報告に類似している。 β -Lactam 薬耐性菌はさまざまな菌種でみられ、ABPC に耐性を示す菌株は 30 株存在したが、このうち 1 株を除く 29 株が β -lactamase を産生した。これらの事実、口腔常在嫌気性グラム陰性桿菌に β -lactamase 産生因子を持った β -lactam 薬耐性菌が広く分布していることを示唆している。さらに重要なことは、 β -lactamase 産生性が β -lactam 薬感受性菌でみられることである。田中ら¹⁹ は β -lactam 薬耐性・ β -lactamase 産生 *P. intermedia* が CEX, ABPC の投与により CEX, ABPC に対して高度耐性化することおよび誘導により β -lactamase 活性が高くなることを明らかにしている。今回分離された β -lactamase 産生性で β -lactam 薬感受性である菌株は β -lactam 薬との接触により β -lactam 薬耐性菌へと移行する可能性があり、その結果、耐性菌数の増加や高度耐性化の進行が考えられる。

また、菌性感染症の病巣からは嫌気性グラム陰性桿菌が優位に分離されており²⁻⁴、健常な口腔常在菌叢に

くらべて嫌気性グラム陰性桿菌の占める割合がかなり高くなっている。このように BPGNR を含む嫌気性グラム陰性桿菌は β -lactamase 産生率が高く、容易に抗菌薬に耐性化するなど菌性感染症の増悪において注目すべき細菌である。 β -lactam 薬耐性 *P. melaninogenica* は健常な口腔から優位に分離される細菌¹⁰であり本研究結果も類似している。一方、菌性感染症内容物からは β -lactam 薬耐性 *P. intermedia* が優位に分離される²⁻⁴。この優位分離菌種の差異の理由はさだかではない。 β -Lactamase の産生量、活性あるいは構造が異なることや他の耐性機構 (外膜透過性障害など) の存在^{20,21} および組織破壊酵素産生性の差異²² などが感染症の治療の過程で投与された β -lactam 薬に対する反応や細菌の生存性を異にし、*P. intermedia* が *P. melaninogenica* より病巣内で生き残りやすいためではないかと考えられる。しかし、この点については菌性感染症の発症・増悪過程の解明とともにさらに検討し明らかにしたいと考えている。

ニューキノロン薬は β -lactam 薬耐性菌による感染症などの治療によく使用されている。これまでニューキノロン薬は β -lactamase に対して安定で β -lactam 薬との間での交叉耐性がみられない²³ と述べられているが、本研究では OFLX と β -lactam 薬に耐性を示す菌株が分離された。この結果は多剤耐性に関して注目すべき点である。

以上の事実は口腔常在菌叢である唾液中に β -lactam 薬耐性菌や β -lactamase 産生菌が生息しており、内因感染症の菌性感染症の化学療法を実施するときは、注意深く抗菌薬を決定し用いなければならないことを示唆している。OFLX は β -lactamase 産生菌に効果を示すと考えられるが、耐性菌も検出されるので、投与に際しては十分注意しなければならない。

文 献

- 1) 北野繁雄: 口腔感染症の成立と防御。これからの口腔感染症 (北野繁雄, 山本美朗編), p.1~17, 学建書院, 東京, 1993
- 2) 松本和浩: 閉鎖性の菌槽膿瘍の細菌学的研究。日口外誌 36: 2016~2034, 1990
- 3) 多々見敏章: 菌性感染症における偏性嫌気性菌の病原因子とくに酵素活性に関する研究。日口外誌 38: 254~270, 1992

- 4) 木下 智, 尾上孝利, 大宮真紀, 他: 菌性感染症から分離した細菌の β -lactam 薬感受性。日本化学療法学会雑誌 43: 1025~1030, 1995
- 5) 服部 均, 尾上孝利: 膿汁中細菌の微細構造ならびに画像処理。歯科医学 58: 232~244, 1995
- 6) 影向範昭, 田中道雄, 木村真太郎, 他: 歯科における抗菌剤の使用傾向—全国歯科大学附属病院 29 病院における使用実態調査—。歯科療法 13: 39~47, 1994
- 7) 木村真太郎, 向山 侑, 鈴木 昇, 他: 国立大学歯学部附属 9 病院におけるニューキノロン剤の使用量について。歯薬療法 15: 84~89, 1996
- 8) 佐々木次郎, 金子明寛, 江端 洋, 他: レンサ球菌の新しい分類に対する本邦臨床検査の現状。歯薬療法 9: 143~147, 1990
- 9) 山本宏治, 福島久典, 豊嶋ゆかり, 他: 口腔から分離した Black-pigmented *Bacteroides* の抗生物質感受性。Chemotherapy 36: 405~441, 1988
- 10) 大宮真紀: 学童期小児の唾液中における penicillin G 耐性菌の分布。歯科医学 55: 173~187, 1992
- 11) Syed S A, Loesche W J: Survival of human dental plaque flora in various transport media. Appl Microbiol 24: 638~644, 1972
- 12) Koneman E W, Allen S D, Dowell V R Jr., et al.: The anaerobic bacteria. In Color atlas and textbook of diagnostic microbiology, p. 406~408, J. B. Lippincott, Philadelphia, 1988
- 13) 渡辺邦友, 加藤直樹, 青江宏江, 他: 歯周病巣から分離された黒色素産生嫌気性グラム陰性桿菌の Rap ID ANA による同定。JARMAN 1: 57~63, 1988
- 14) 日本化学療法学会抗菌薬感受性測定法検討委員会報告: 微量液体希釈による MIC 測定法 (微量液体希釈法)—日本化学療法学会標準法—。Chemotherapy 38: 102~105, 1990
- 15) 坂下英明: 感染症と薬物療法。これからの口腔感染症 (北野繁雄, 山本美朗編), p.149~175, 学建書院, 東京, 1993
- 16) Morishima T, Sasaki J: Transient bacteremia after tooth extraction. 歯薬療法 13: 48~58, 1994
- 17) 中川清昌, 斎木康正, 岡部孝一, 他: 口腔領域混合感染症の発生機序に関する検討—*In vitro* における酸化還元電位と生菌数の関連性について。日口外誌 39: 1035~1042, 1993
- 18) Jacobs M R, Spangler S K, Appelbaum P C: Beta-lactamase production and susceptibility of US and European anaerobic Gram-negative bacilli to beta-lactams and other agents. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 11: 1081~1093, 1992
- 19) 田中裕之, 尾上孝利, 北条博一, 他: 口腔感染症由来 *Prevotella intermedia* における β -lactam 剤高度耐性株の選択と β -lactamase 活性の誘導。日口診誌 8: 457~463, 1995
- 20) 山田英夫, 尾上孝利: 学童期小児の唾液より分離した β -lactam 剤耐性 *Prevotella* の β -lactamase 活性と外膜透過性。歯科医学 57: 153~166, 1994
- 21) 杉原圭子: *Prevotella intermedia* 細胞の外膜における porin の精製。歯科医学 60: 131~140, 1997
- 22) 砂川正次, 井上純一: Indole 産生を示す *Prevotella melaninogenica* 類似菌の同定。歯科医学 56: 243~260, 1993
- 23) 才川 勇: 抗菌剤を中心とした医薬品開発の問題点。歯薬療法 14: 59~65, 1995

Susceptibility of anaerobic gram-negative rods isolated from human saliva

Satoshi Kinoshita¹⁾, Takatoshi Onoe²⁾, Toshiya Sano¹⁾, Keiko Sugihara³⁾,
Maki Omiya³⁾, Kazuhiro Matsumoto¹⁾, Takeo Nishizaki¹⁾, Nobuhito Kuribayashi¹⁾,
Kenji Yamamoto¹⁾, Makoto Tabushi¹⁾, Yuichi Murata¹⁾, Hideo Ishikawa¹⁾,
Kozo Konishi²⁾, Hirosuke Sagawa²⁾ and Rikiya Shirasu¹⁾

¹⁾ First Department of Oral and Maxillofacial Surgery, ²⁾ Department of Bacteriology, and ³⁾ Research Institute for Clinical Dentistry, Osaka Dental University, 8-1 Kuzuhahanazono-cho, Hirakata City, Osaka 573-1121, Japan

In the selection of antibacterial drugs for treating odontogenic infection, we determined the MIC of ampicillin (ABPC), cefaclor (CCL), ceftam (CFTM) and ofloxacin (OFLX) against anaerobic gram-negative rods isolated from the human saliva, and examined these bacteria for β -lactamase production. From the saliva of 41 of 50 volunteers, 77 strains of anaerobic gram-negative rods were isolated. Among them, black-pigmented gram-negative rods including *Prevotella melaninogenica* and *Prevotella intermedia* were dominant. The MIC distribution of CCL, CFTM and OFLX against *Prevotella*, *Porphyromonas gingivalis* and *Bacteroides ureolyticus* were wide range and showed two peaks. The breakpoint was decided by MIC distribution and resistant bacteria was determined that growth above breakpoint. The breakpoints of CCL, CFTM and OFLX were 32, 16 and 16 $\mu\text{g/ml}$, respectively. The MIC distribution of ABPC was showed three peaks, the breakpoint was 1 $\mu\text{g/ml}$, the strains that growth at or below 16 $\mu\text{g/ml}$ were moderate resistant and above 16 $\mu\text{g/ml}$ were high resistant. *Fusobacterium* sp. and unidentified strains were detected on the MIC distribution, similarly. The breakpoint of CCL against *Fusobacterium* sp. was 16 $\mu\text{g/ml}$ and ABPC, CCL, CFTM and OFLX against unidentified strains were 64, 16, 32 and 16 $\mu\text{g/ml}$, respectively. Total 41 resistant strains were isolated. Type of resistance in these bacteria included one to four drug resistance. Thirty-two strains produced β -lactamase, but the susceptibility of 3 β -lactamase producers to 3 β -lactams was high. One of the 9 OFLX-resistant strains produced β -lactamase, but was not resistant to β -lactams. However, 5 OFLX-resistant strains without β -lactamase production showed resistance to β -lactams. These results suggest that in the choice of antimicrobial agents for treating odontogenic infection, attention must be paid to β -lactam antibiotic-resistant with β -lactamase production or OFLX-resistant anaerobic gram-negative rods.