

## 原 著

*Helicobacter pylori* の薬剤感受性試験法の検討と耐性株の出現状況

<sup>1)</sup>麻布大学大学院環境保健学, <sup>2)</sup>東京都立衛生研究所微生物部, <sup>3)</sup>杏林大学医学部第三内科, <sup>4)</sup>(財)東京顕微鏡院

和田真太郎<sup>1)</sup> 松田 基夫<sup>1)</sup> 新垣 正夫<sup>2)</sup>

甲斐 明美<sup>2)</sup> 高橋 信一<sup>3)</sup> 伊藤 武<sup>4)</sup>

(平成13年12月11日受付)

(平成14年12月17日受理)

Key words : *Helicobacter pylori*, antimicrobial susceptibility test, drug susceptibility, clarithromycin

## 要 旨

*Helicobacter pylori* 感染症の治療法として、プロトンポンプ阻害剤および数種類の抗生物質を用いる方法が保険適応の認可を受けた。しかし、耐性株の出現が除菌治療の不成功の要因となることが明らかとなっているため、除菌治療を行う前に薬剤感受性試験を行うことが重要となってきた。

本研究では寒天平板希釈法、Etest法、および微量液体希釈法(ドライプレート)の三種類の薬剤感受性試験法を比較し、*H. pylori* に最も適した試験法の検討を行うとともに、*H. pylori* の耐性株の出現状況について検討を行った。

その結果、ドライプレートは簡便な方法であり結果の判定も明瞭であった。さらに、液体培養で得られるMICの方が寒天平板を用いる寒天平板希釈法およびEtest法よりも*H. pylori* の薬剤感受性試験法として適した方法であることが示唆された。

一方、各種抗生物質に対する耐性株の出現状況は1994年～1998年に分離された*H. pylori* 393株において、アモキシシリンやミノマイシンに対する耐性株は認められなかった。しかし、クラリスロマイシンは85株(22.0%)そしてメトロニダゾールは36株(21.7%)が耐性であった。現在、*H. pylori* 感染症に抗生物質による治療が行われていることから、耐性菌の出現を抑えることが今後の除菌治療における重要な課題であると考えられる。

[感染症誌 77 : 187～194, 2003]

## 序 文

1994年にアメリカ国立衛生研究所(National Institute of Health : NIH)は*Helicobacter pylori* 感染による消化性潰瘍に関する治療法の勧告を行った<sup>1)</sup>。この勧告では、*H. pylori* 感染による胃潰瘍および十二指腸潰瘍に対して抗生物質による除菌治

療が推奨された。国内でも日本消化器病学会が中心となり*H. pylori* 感染者の除菌治療に関する基礎的研究が進められ、プロトンポンプ阻害剤および二種類の抗生物質、主にアモキシシリン(Amoxicillin : AMPC)およびクラリスロマイシン(Clarithromycin : CAM)を一週間服用する三剤療法が推奨されてきた。また、2000年11月には*H. pylori* の抗生物質による除菌治療の保険適応が認可され、広く抗生物質が利用されるものと考えられる。しかし、抗生物質の投与を行うことによ

別刷請求先 : (〒103 0015 東京都中央区日本橋箱崎町

44 1 イマス箱崎ビル3階

(財)東京顕微鏡院日本橋研究所

和田真太郎

平成15年4月20日

る耐性株の出現が危惧され、事実、使用抗生物質に対する耐性株が出現しており、除菌治療の不成功の要因となっていることが考えられている。従って、除菌治療を行う前に薬剤感受性試験を行うことが重要となってきている。また、*H. pylori*の株間を識別する性状の一つとしての薬剤感受性試験も有効である。しかし、*H. pylori*は発育条件が厳しく、死滅しやすいことから*H. pylori*に最も適する薬剤感受性試験法を確立する必要がある。

本研究では薬剤感受性試験法である寒天平板希釈法、Etest、および微量液体希釈法の三法を比較し、*H. pylori*に最も適した試験法の検討を行うとともに、*H. pylori*の各常用抗生物質に対する耐性株の出現状況について検討を行った。

### 材料および方法

#### 1. 供試菌株

薬剤感受性試験法の比較にはNCTC11637(ATCC93504)、NCTC11639、そして各種胃疾患の患者から分離された*H. pylori* 77株を用いた( Table 1)。各種常用抗生物質に対する耐性株の出現の検討には1994年～1998年の5年間に分離された*H. pylori* 393株を用いた。患者は胃潰瘍患者

Table 1 *H. pylori* isolates used for the comparison antimicrobial susceptibility tests

| Diagnosis                  | No. of strains |
|----------------------------|----------------|
| Gastric ulcer              | 30             |
| Duodenal ulcer             | 28             |
| Gastric and duodenal ulcer | 19             |
| Total                      | 77             |

142名、十二指腸潰瘍患者135名、胃・十二指腸潰瘍患者50名、胃炎患者37名、胃ガン患者18名、そしてその他の疾患患者(MAL Toma, 胃ポリープなど)11名であった( Table 2)。

#### 2. 供試薬剤

薬剤感受性試験法の比較には*H. pylori*の除菌治療に用いられている2薬剤、アモキシシリンおよびクラリスロマイシンを供試した。耐性株の出現状況の検討には、これらの他に欧米で*H. pylori*の除菌治療で頻繁に用いられているメトロニダゾール、そしてこれら3薬剤とは作用機序の異なるミノマイシンの4薬剤を供試した。

#### 3. 寒天平板希釈法

##### 1) 培地

Casamino acid 培地(0.5% Yeast Extract [ Difco ], 0.5% NaCl, 1% Bacto Peptone [ Difco ], 1.5% Casamino Acid [ Difco ], 1.5% Bacto Agar [ Difco ])に馬脱繊維血液[Nippon Bio-Tech Laboratory]を5%添加した血液寒天培地に薬剤濃度が100 $\mu$ g/ml, 50 $\mu$ g/ml, 25 $\mu$ g/ml, 12.5 $\mu$ g/ml, 6.25 $\mu$ g/ml, 3.12 $\mu$ g/ml, 1.56 $\mu$ g/ml, 0.78 $\mu$ g/ml, 0.39 $\mu$ g/ml, 0.20 $\mu$ g/ml, 0.10 $\mu$ g/ml, 0.05 $\mu$ g/ml, 0.025 $\mu$ g/ml, になるように調製した寒天平板を作成した。

##### 2) 菌液の調製

10% グリセロール加BHI ブイヨン中で凍結保存していた*H. pylori*を血液寒天培地上にスポット培養を行い、発育した*H. pylori*菌体を10% FBS-BHI ブイヨンで37℃, 1日～2日間振とう培養を行い供試菌液とした。

Table 2 *H. pylori* isolates for the antimicrobial susceptibility test

| Diagnosis                  | No. of strains |      |      |      |      | Total |
|----------------------------|----------------|------|------|------|------|-------|
|                            | 1994           | 1995 | 1996 | 1997 | 1998 |       |
| Gastric ulcer              | 14             | 15   | 31   | 50   | 32   | 142   |
| Duodenal ulcer             | 9              | 20   | 22   | 45   | 39   | 135   |
| Gastric and duodenal ulcer | 8              | 17   | 10   | 8    | 7    | 50    |
| Gastritis                  |                | 3    | 9    | 16   | 9    | 37    |
| Gastric cancer             |                |      | 2    | 10   | 6    | 18    |
| Other                      | 1              |      | 1    | 4    | 5    | 11    |
| Total                      | 32             | 55   | 75   | 133  | 98   | 393   |

3) 培養と判定

寒天平板希釈法用スポッター (32 株用) を用いそれぞれの薬剤濃度の寒天平板に菌液をスポットし, 微好気条件, 37 で 3 日 ~ 5 日間培養を行った。

それぞれの薬剤濃度の寒天平板について発育の有無を観察し, 発育が阻止された最も薬剤濃度の低い値を最小発育阻止濃度 (minimum inhibitory concentration : MIC) とした。

4. Etest [ AB Biodisk, Sweden ]

1) 培地

Muller-Hinton 寒天培地 [ OXOID ] に馬脱繊維血液 [ Nippon Bio-Tech Laboratory ] を 5% 添加して調製した血液寒天培地を用いた。

2) 培養と判定

寒天平板希釈法と同様に調製した菌液を血液寒天培地に塗布し, その上に Etest のストラップをのせ, 微好気条件, 37 で 3 日 ~ 5 日間培養を行った。

Etest のストラップの周りに生じる *H. pylori* の発育阻止帯とストラップとの交わるところを MIC として判定した。

5. 微量液体希釈法

1) ドライブプレート [ 栄研化学 ]

96 穴マイクロプレートに薬剤濃度をアモキシシリンでは 0.015µg/ml ~ 32µg/ml, クラリスロマイシンおよびミノマイシンでは 0.0075µg/ml ~ 16µg/ml までの 12 段階に希釈して添加したもの, メトロニダゾールでは 0.125µg/ml ~ 16µg/ml までの 8 段階に希釈したものをを用いた。

2) 菌液の調製

寒天平板希釈法と同様に培養した菌液を 10% FBS-BHI ブイヨンに McFarland No. 1 程度の濃度になるように加え調製した。

3) 培養と判定

抗生物質が添加されたドライブプレートの各ウェルに調製した菌液を 100µl 分注し, 微好気条件下で 37, 3 日 ~ 5 日間培養を行った。

培養後のドライブプレートを専用のマイクロプレートビューで観察し, 菌が発育してウェルの底に白く沈殿しているのを確認し, 発育が抑制され

ている濃度から MIC を求めた。

結果

1. 寒天平板希釈法, Etest, および微量液体希釈法の比較

寒天平板希釈法, Etest, および微量液体希釈法 (ドライブプレート) の比較を行った結果, アモキシシリンでは NCTC11637 は寒天平板希釈法, Etest, およびドライブプレートで 0.025µg/ml 以下, 0.016µg/ml 以下そして 0.015µg/ml 以下であった。同様に NCTC11639 は寒天平板希釈法, Etest, およびドライブプレートで 0.025µg/ml 以下, 0.016µg/ml 以下そして 0.015µg/ml 以下であった。クラリスロマイシンでは NCTC11637 は寒天平板希釈法, Etest, およびドライブプレートで 0.05µg/ml, 0.03µg/ml そして 0.023µg/ml であった。同様に NCTC11639 は寒天平板希釈法, Etest, およびドライブプレートで 0.05µg/ml 以下, 0.03µg/ml 以下そして 0.032µg/ml 以下であった。アモキシシリンでは全ての株が, 寒天平板希釈法では 0.39µg/ml, Etest およびドライブプレートでは 0.125µg/ml 以下の MIC を示し, 耐性株の存在は認められなかった。クラリスロマイシンではおもに感受性菌と耐性株の二つの分布を示し, 8µg/ml 以上の耐性株

Fig. 1 Comparison of broth microdilution method and agar gradient method : amoxicillin

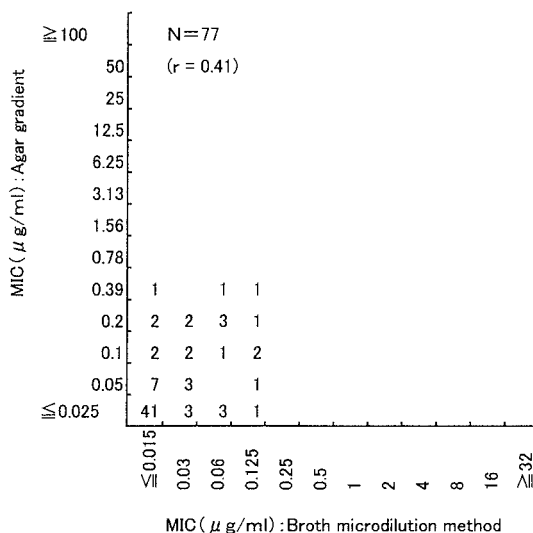


Fig. 2 Comparison of broth microdilution method and agar gradient method : clarythromycin

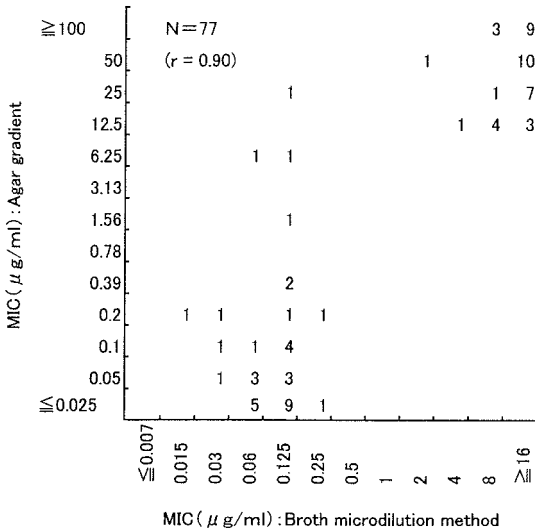
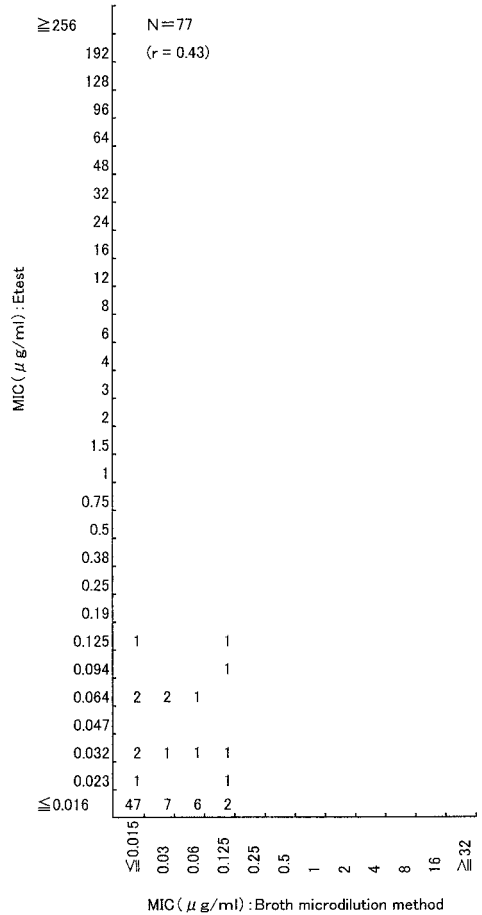


Fig. 3 Comparison of Etest and broth microdilution method : amoxicillin



がドライプレートの成績から77株中37株(48.1%)認められた。寒天平板希釈法とドライプレートとの比較においてアモキシシリンでは高い相関が得られた(Fig. 1),しかしクラリスロマイシンでは寒天平板希釈法では25μg/mlであったがドライプレートでは0.125μg/ml,寒天平板で6.25μg/mlであった2株がドライプレートでは0.06μg/mlと0.125μg/mlと一部の株でドライプレートでは感受性であるが寒天平板希釈法では耐性に近い値を示した株が認められたが全体的にはドライプレートの方が高い値を示した(Fig. 2)。同様にEtestとドライプレートではアモキシシリンでは高い相関が得られた(Fig. 3),クラリスロマイシンではEtestで0.016μg/ml以下であった株がドライプレートでは0.015μg/ml~0.25μg/mlに広く分布しており,全体的にもドライプレートの方が高い値を示した(Fig. 4)。そしてEtestと寒天平板希釈法ではアモキシシリンでは寒天平板希釈法の方が高い値を示し(Fig. 5),クラリスロマイシンではEtestで0.016μg/ml以下であった株が寒天平板希釈法では0.015μg/ml~25μg/mlに広く分布しており,MICの低い株では寒天平板希釈法の方が高く,逆にMICの高い株ではEtestの方が高い傾

向であり,全体的にばらつきが多く認められた(Fig. 6)。

2. 各種常用抗生物質に対する耐性株の出現状況

各種常用抗生物質に対する耐性株の出現状況の検討では,アモキシシリン,クラリスロマイシン,ミノマイシン,およびメトロニダゾールの4薬剤を供試した。薬剤感受性試験法は,微量液体希釈法であるドライプレートを用いて行った。

アモキシシリンは386株供試し,255株(66.1%)の株が0.015μg/ml以下,最もMICが高いものでも1μg/mlの5株(1.3%)であり,すべての株がアモキシシリンに感受性であった。同様にミノマイ

Fig. 4 Comparison of Etest and broth microdilution method : clarithromycin

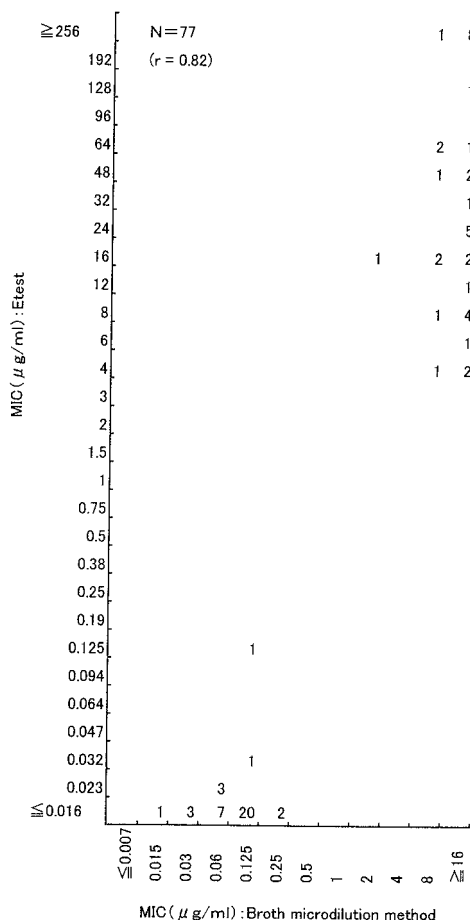
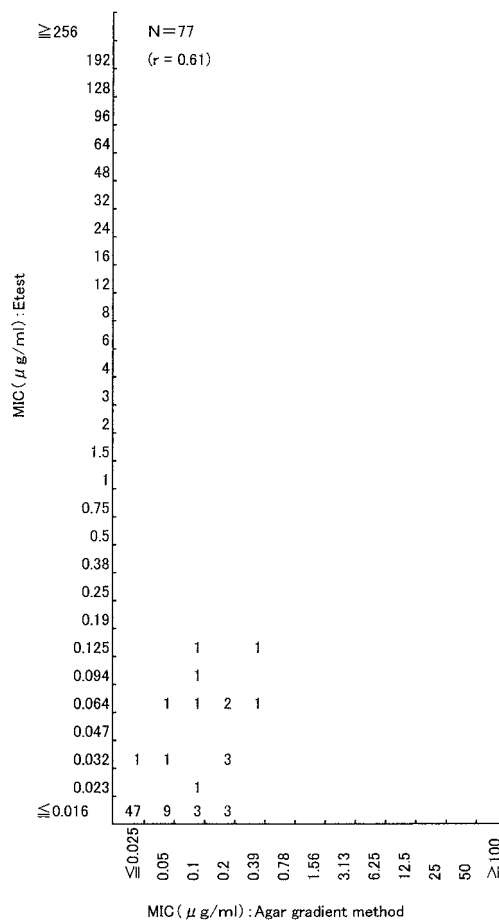


Fig. 5 Comparison of Etest and agar gradient method : amoxicillin



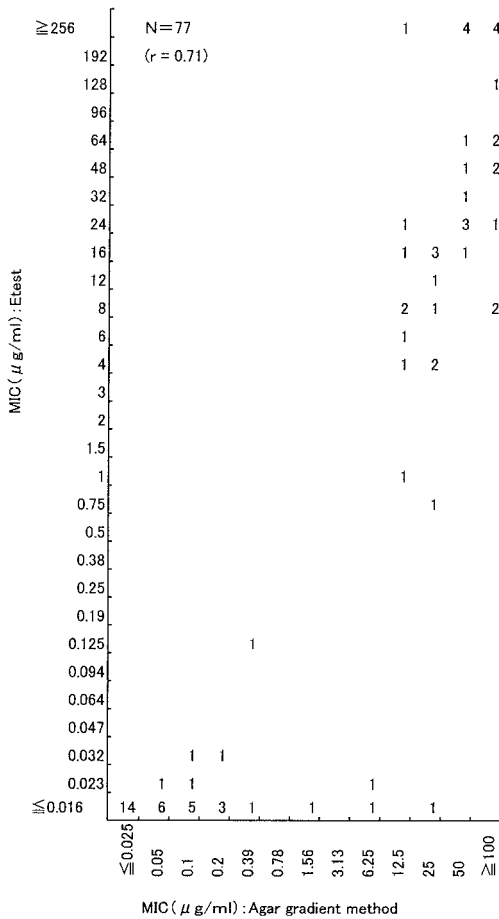
シンは 199 株供試し, MIC が 0.06μg/ml ~ 1μg/ml の範囲で分布しており, すべての株が感受性であった. クラリスロマイシンは 386 株供試し, MIC が 0.015μg/ml ~ 16μg/ml 以上の広範囲に分布しており, 8μg/ml 以上の耐性株が 85 株 (22.0%) 認められた. そしてメトロニダゾールは 166 株供試し, MIC が 0.5μg/ml ~ 16μg/ml 以上の狭い範囲で分布しており, 8μg/ml 以上の耐性株が 36 株 (21.7%) 認められた (Table 3).

考 察

H. pylori 除菌のための適切な抗生物質の選択には, 分離菌株の薬剤感受性試験が必要となるが, H. pylori に適した薬剤感受性試験法が確立されて

いない. 今回は寒天平板希釈法, Etest, およびドライプレートの 3 法を比較検討した. NCTC11637 および 11639 を用いた薬剤感受性試験の結果, 本研究における試験は NCCLS の管理基準を満たす結果であった. ドライプレート法と寒天平板希釈法, ドライプレート法と Etest および寒天平板希釈法と Etest それぞれの相関は, アモキシシリンでは 0.41, 0.43, 0.61, クラリスロマイシンでは 0.90, 0.82, 0.72 であった. クラリスロマイシンでは高い相関が得られたが, アモキシシリンでの相関は低いものの偽耐性や偽感受性は認められず良好な結果が得られた. Piccolomini らは寒天平板希釈法, Etest および液体希釈法の 3 法による比較を

Fig. 6 Comparison of Etest and agar gradient method : clarithromycin



行った結果、3法とも高い相関が得られたが、寒天平板希釈法および液体希釈法は操作が煩雑であり、Etestが最も良い薬剤感受性試験法であると報告している<sup>2)</sup>。海外においてもEtestを用いて薬剤感受性試験を行っている報告が多く認められる<sup>3)-5)</sup>。しかし、*H. pylori*は寒天平板上で発育が遅いため、発育限界を判定基準とするこの方法も*H. pylori*に適しているわけではない。微好気培養時のCO<sub>2</sub>濃度が培地中のpHおよびMICに大きく影響する報告<sup>6)</sup>もあり、液体で培養するドライプレート法に比して寒天平板を用いる寒天平板希釈法およびEtestはCO<sub>2</sub>の影響によるMICの変化が大きくなる。本研究の結果、寒天平板希釈法は操作が煩雑であるがドライプレートは簡便な方法であり、結果の判定も明瞭である。従って、*H. pylori*の薬剤感受性試験法としてはドライプレート法が最も適した方法であることが考えられる。

一方、1994年～1998年に各種胃疾患患者より分離された*H. pylori* 393株を対象に常用抗生物質に対する耐性株の出現状況の検討を行った。供試菌株には抗生物質による治療前の菌株や治療後の菌株が含まれているが、アモキシシリンやミノマイシンに対する耐性株は認められていない。しかし、クラリスロマイシンは85株(22.0%)そしてメトロニダゾールは36株(21.7%)の株が耐性であることが認められた。耐性菌の出現状況を年別で比較すると、クラリスロマイシンは1994年が31株中11株(35.4%)、1995年が53株中25株

Table 3 Antimicrobial susceptibility of *H. Pylori* isolated from patients

| Antibiotic | No. of isolates | MIC (μg/ml)   |             |             |             |             |             |            |            |            |             |            |  |
|------------|-----------------|---------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------------|------------|------------|-------------|------------|--|
|            |                 | 0.015         | 0.03        | 0.06        | 0.13        | 0.25        | 0.5         | 1          | 2          | 4          | 8           | 16         |  |
| AMPC       | 386<br>(%)      | 255<br>(66.1) | 49<br>(13)  | 29<br>(7.5) | 22<br>(5.7) | 16<br>(4.1) | 10<br>(2.6) | 5<br>(1.3) |            |            |             |            |  |
| CAM        | 386<br>(%)      | 22<br>(5.7)   | 20<br>(5.2) | 77<br>(20)  | 132<br>(34) | 29<br>(7.5) | 3<br>(0.8)  | 7<br>(1.8) | 4<br>(1)   | 7<br>(1.8) | 21<br>(5.4) | 64<br>(17) |  |
| MINO       | 199<br>(%)      |               |             | 5<br>(2.5)  | 58<br>(29)  | 89<br>(45)  | 42<br>(21)  | 5<br>(2.5) |            |            |             |            |  |
| MTZ        | 166<br>(%)      |               |             |             |             |             | 8<br>(4.8)  | 35<br>(21) | 56<br>(34) | 31<br>(19) | 12<br>(7.2) | 24<br>(15) |  |

AMPC: amoxicillin, CAM: clarithromycin, MINO: minomycin, MTZ: metronidazole  
: resistant

(47.1%)、1996年が72株中15株(20.8%)、1997年が133株中22株(16.5%)そして1998年が95株中12株(12.6%)であった。また、メトロニダゾールでは1994年が8株中1株(11.1%)、1995年が34株中10株(29.4%)、1996年が26株中1株(3.8%)、1997年が18株中4株(22.2%)そして1998年が87株中20株(22.9%)であった。各年での供試菌株数が異なるため、本研究では耐性菌の年次推移に増加傾向は認められていないが、耐性菌の存在は大きな問題である。

クラリスロマイシンとメトロニダゾールの一次耐性株の存在が数多く報告されている。アメリカではクラリスロマイシンが6.1%、メトロニダゾールが37.4%、そして両剤耐性が3.0%存在すると報告<sup>7)</sup>、カナダではクラリスロマイシンが3.0%、そしてメトロニダゾールが12.0%<sup>8)</sup>、ドイツではクラリスロマイシンが2.0%、メトロニダゾールが21.0%<sup>9)</sup>などが報告されている。このような一次耐性株の原因としては、クラリスロマイシンでは呼吸器感染症などの治療に、メトロニダゾールでは原虫疾患の治療に用いられており、これら疾患の治療のために投与された抗生物質により、胃内に定着していた *H. pylori* が耐性を獲得したものであると推察される。また、常岡らはクラリスロマイシン治療前の耐性株が8.2%であったが治療後に73.5%へ耐性株が増加したことを報告している<sup>10)</sup>。同様に、除菌治療後に耐性株が認められる二次耐性が海外でも多く報告されている<sup>9)11)~13)</sup>。また、大分医科大学の本原らの報告では1987年~1988年の分離株ではクラリスロマイシン耐性株が7.3%にすぎなかったのが1997年~1998年の分離株では14.0%と耐性株の増加を報告している<sup>14)</sup>。伊藤らの報告ではクラリスロマイシン耐性株が1985年では認められていなかったが1995年の分離株では36.1%が耐性となっている<sup>15)</sup>。このようにクラリスロマイシンの耐性株が増加傾向にあることが指摘されている。

また、Zwetらによっていままで耐性株が認められていなかったアモキシシリン耐性株の存在が報告された<sup>16)</sup>。このことは治療に用いられている抗生物質に対する耐性株出現が今後も増加する事

が予想され、継続した注意が求められる。このような耐性株の出現は *H. pylori* の除菌不成功の原因であるとして注目されている<sup>17)18)</sup>。

従って、耐性株の増加の防止そして新たな抗生物質に対する耐性株の発生を防ぐためには成功率の高い除菌治療が必要である。そのためには、経験的治療のみでなく積極的に菌分離検査を行い、分離菌株の薬剤感受性試験結果をもとにした抗生物質による除菌治療を適用することが重要と考えられる。そのためにも *H. pylori* の薬剤感受性試験法についても今後更なる検討が必要である。

## 文 献

- 1) NIH consensus development panel on *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease: *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. JAMA 1994; 272: 65-9.
- 2) Piccolomini R, Bonaventura DG, Catamo G, Carbone F, Neri M: Comparative evaluation of the Etest, agar dilution and broth microdilution for testing susceptibilities of *Helicobacter pylori* strains to 20 antimicrobial agents. J Clin Microbiol 1997; 35: 1842-6.
- 3) Glupczynski Y, Labbe M, Hansen W, Crokaert F, Yourassowsky E: Evaluation of the Etest for quantitative antimicrobial susceptibility testing of *Helicobacter pylori*. J Clin Microbiol 1991; 29: 2072-5.
- 4) Cederbrant G, Kahlmeter G, Ljungh A: The Etest for antimicrobial susceptibility testing of *Helicobacter pylori*. J Antimicrobiol Chemother 1993; 31: 65-71.
- 5) Valdez Y, Velapatino B, Gilman RH, Gutierrez V, Leon C: Antimicrobial susceptibility of *Helicobacter pylori* determined by the Etest using tetracycline egg yolk agar. J Clin Microbiol 1998; 36: 2784-5.
- 6) 宇田川宏和, 宍戸秀喜, 伊藤 武, 新垣正夫, 星谷 聡, 高橋信一: マイクロプレートを用いた微量液体希釈法での *Helicobacter pylori* 薬剤感受性試験における CO<sub>2</sub> 培養条件の検討. 感染症誌 1999; 73: 565-9.
- 7) Osato MS, Reddy R, Graham DY: Metronidazole and clarithromycin resistance amongst *Helicobacter pylori* isolates from a large metropolitan hospital in the United States. Int J Antimicrobiol Agents 1999; 12: 341-7.
- 8) Taylor DE, Jiang Q, Fedorak RN: Antibiotic susceptibilities of *Helicobacter pylori* strains isolated in the Province of Alberta. Can J Gastroenterol

- 1998 ; 12 : 295 8.
- 9) Adamek RJ, Suerbaum S, Pfaffenbach B, Opferkuch W : Primary and acquired *Helicobacter pylori* resistance to clarithromycin, metronidazole, and amoxicillin influence on treatment outcome. *Am J Gastroenterol* 1998 ; 93 : 386 9.
- 10) 常岡英弘, 高場満也, 永富裕二, 森 健治, 松本高明, 本田武司 : *Helicobacter pylori* の除菌治療に伴う amoxicillin, clarithromycin の感受性変化 . 感染症誌 1997 ; 72 : 335 41.
- 11) Vakil N, McSorly D, Hahn B : Clarithromycin resistant *Helicobacter pylori* in the United States. *Gastroenterol* 1997 ; 112 : A318.
- 12) Weissfeld N, Simmons D, Rose P : Susceptibility of *Helicobacter pylori* to clarithromycin and amoxicillin in U.S. *Gastroenterol* 1997 ; 112 : 329.
- 13) Morton D, Bardhan K : A six-year assessment tinidazole, metronidazole, clarithromycin, tetracycline and amoxicillin resistance in *Helicobacter pylori* clinical isolates : A rising tide of antibiotic resistance? *Gastroenterol* 1998 ; 113 : A235.
- 14) 木本真美, 村上和成, 西園 晃, 久保田利博, 佐藤竜吾, 藤岡利生, 他 : 過去 10 年間における *Helicobacter pylori* 耐性菌出現率の年次推移第 4 回日本ヘリコバクター学会学術集会抄録集 . 1998 ; p. 72.
- 15) 伊藤 武, 新垣正夫, 只野敬子, 甲斐明美, 高橋信一, 二宮英彦, 他 : *Helicobacter pylori* 除菌薬の副作用と耐性菌の出現 . *Helicobacter Res* 1997 ; 1 : 56 62.
- 16) Zwet AAV, Vandenbrouke-Grauls JMCE, Thijs JC, van der Wouden EJ, Gerrits MM, Kusters JG : Stable amoxicillin resistance in *Helicobacter pylori*. *Lancet* 1998 ; 352 : 1595.
- 17) O 'Morain CA, Dettmer A, Rombow A, von Fritsch E, Fraser AG : Double-blind, multicenter, placebo controlled evaluation of clarithromycin and omeprazole for *Helicobacter pylori* - associated duodenal ulcer. *Helicobacter* 1996 ; 1 : 130 7.
- 18) Moayyedi P, Langworthy H, Schanahan K, Tompkins DS, Dixon MF, Chalmers DM, *et al.* : Comparison of one or two weeks of lansoprazole, amoxicillin and clarithromycin in the treatment of *Helicobacter pylori*. *Helicobacter* 1996 ; 1 : 71 4.

#### Antimicrobial Susceptibility Tests and Resistant Strain of *Helicobacter pylori*

Shintaro WADA<sup>1)</sup>, Motoo MATSUDA<sup>1)</sup>, Masao SHINGAKI<sup>2)</sup>, Akemi KAI<sup>2)</sup>,  
Shinichi TAKAHASHI<sup>3)</sup> & Takeshi ITOH<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup>Graduate School of Environmental Health Sciences Azabu University, <sup>2)</sup>Department of Microbiology, Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health, <sup>3)</sup>Third Department of Internal Medicine, Kyorin University, <sup>4)</sup>Tokyo Kenbikyo-in Foundation

The antimicrobial susceptibility test was necessary for the eradication therapy of *Helicobacter pylori* infections. This is because, clarithromycin resistant strains has become an increasing problem.

In this study, we used the antimicrobial susceptibility test which was compare with the agar gradient method, Etest, and broth microdilution method ( dry plate ) with 4 antimicrobial agents. The results strongly suggested that broth microdilution method was the best method in order to test the antimicrobial susceptibility of *H. pylori*.

On the other hand, 393 *H. pylori* stains isolated during 1994 ~ 1998 from clinical patients were tested for antimicrobial susceptibility test to amoxicillin, clarithromycin, metronidazole, and minomycin. There were no resistant strains to amoxicillin and minomycin. But clarithromycin and Metronidazole resistant strains were recognized in 85 ( 22.0% ) and 36 ( 21.7% ) strains.