

平成 30 年 6 月 5 日現在

機関番号：13802

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2017

課題番号：15K15788

研究課題名(和文) バイオフィーム形成モデルの確立及び看護ケアにおけるカテーテル関連感染予防の検討

研究課題名(英文) Establishment of biofilm formation model and prevention of catheter related infection in nursing care

研究代表者

鈴木 美奈 (SUZUKI, MINA)

浜松医科大学・医学部・准教授

研究者番号：40622824

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,300,000円

研究成果の概要(和文)：2012年度の診療報酬改定でも在宅医療重視の方向性が示され、今後ますます在宅医療は増加していくことが予想される。在宅等で栄養チューブや吸引チューブの管理が適切かつ簡潔に行える方法の開発は重要である。しかしチューブ内に形成される細菌バイオフィームはそのような状況において重要な問題である。我々は、手軽に手に入るクエン酸や食酢等のバイオフィーム除去効果の検討を行った。カテーテル素材として用いられているシリコンシート上に緑膿菌のバイオフィームを形成させた後、種々の溶液のバイオフィーム除去効果を検討した。いくつかの溶液でバイオフィーム除去効果を確認したが、その程度にばらつきがみられた。

研究成果の概要(英文)：The revision of the medical payment system in 2012 shows the direction of emphasis on home health care, and home medical care is expected to increase more and more in the future. It is important to develop a simple method that can properly and concisely manage nutrient tubes and suction tubes at home. But the bacteria biofilm formation inside the tubes is a critical issue in such situations. We examined here several reagents such as citric acid and vinegar, which can be easily obtained at home. A biofilm of *Pseudomonas aeruginosa* was formed on a silicon sheet used as a catheter material. Then, we examined the biofilm removal effects of the reagents. We found that the reagents have the biofilm removal effects. But, as there are variations in the degrees of their biofilm removal effects, further investigation is necessary in the future.

研究分野：基礎看護学

キーワード：基礎看護 感染看護

## 1. 研究開始当初の背景

厚生労働省老健局の2011年の調査によると、「可能な限り住み慣れた地域・自宅で最期まで暮らし続けたい」というのが国民の多くの願いであることが示されている。また、2012年度の診療報酬改定でも在宅医療重視の方向性が示され、現在の高齢化社会とあわせてみても、今後ますます在宅医療は増加していくことが予想される。加えて、感染対策防止加算の見直しも行なわれ、地域の医療機関同士の連携による感染対策の推進を重要課題として提示している。このように在宅医療が進めば、在宅において経管栄養や気管内吸引といった医療行為を行うことも少なくない。また、地域における感染対策の重要性がうたわれていても、在宅においては栄養チューブや吸引チューブを複数回使用することは、感染リスクはあるもののコストの面から考えると避けることが難しいのが現状である。在宅で療養をおくる、特に高齢者の方たちに対し、これらのチューブ管理をより身近なもので、より簡単に行える方法を提供することは安全な在宅療養へとつながると考えられる。

ヒトの慢性の細菌感染症、特にカテーテル等の医療器具関連感染の多くは、弱毒菌が主体のバイオフィームが関連しているといわれている。バイオフィームとは、基質に付着した細菌が、細胞外多糖(extracellular polysaccharide; EPS)を分泌し、そこに多くの細菌が、密度の高い閉鎖的なコロニーを形成したものをいう。

また、バイオフィーム中の細菌に対しては、抗菌薬や消毒薬が効きにくいことが知られている。そのためバイオフィームによる感染症の予防には、バイオフィームを効果的に破壊すること、そしてバイオフィームが形成されにくい環境にカテーテル内を保つことが重要であるといえる。

また、医療現場で発生する尿路感染症の80%以上はカテーテルの留置によって発生するとされ、カテーテル留置が尿路感染症の最も大きなリスクとなっている。また、留置期間が長いほど尿路感染症のリスクは高くなるとされ、尿道カテーテルの適正使用、管理が最も重要な尿路感染症対策であるとされている(カテーテル関連尿路感染予防のためのCDCガイドライン2009)。カテーテル留置による尿路感染症の減少につながる管理方法を検討することは今後重要な課題であるといえる。

院内感染、特に薬剤耐性菌による院内感染が医療現場では重要な問題となっており、易感染性患者を多く抱えるICUやCCUでは特に大きな問題である。院内感染の予防には多くの殺菌剤が使用されているが、全菌種に殺菌作用を示すものはなく、より汎用性のある簡便な消毒・殺菌法が求められている。オゾン水はオゾンガスを水中に溶け込ませた水である。オゾン水は、殺菌効果、脱臭効果、

脱色効果、鮮度保持効果、酸化・分解効果、生育促進効果などを有するとされている。殺菌効果は、オゾンの強力な酸化力により細菌の細胞膜を酸化破壊することで細菌を不活化し除去すると考えられている。また、脱臭効果、脱色効果などもオゾンの強力な酸化力による効果である。医療分野では、オゾンのこのような酸化力や殺菌力といった性質を利用して、バイオクリーンルームや病室の消毒が活用されつつある。医療現場での殺菌剤には、微酸性電解水、混合希釈型次亜塩素酸水、次亜塩素酸ナトリウム水などがある。これらは、いずれも耐性菌出現の可能性があり、残留性副産物がある。これに対して、オゾン水は、幅広い殺菌スペクトルを持ち、継続的に使用しても耐性菌を生じないという特徴があり、病院内における院内感染菌として知られているMRSAなどの消毒・殺菌では大きな力を発揮すると期待されている。さらにオゾン水は、残留性がないという特徴がある。医療機器の滅菌については、従来はエチレンオキシドガスなどが使用されているが、オゾン水は残留性がないため、オゾン殺菌法が検討されてきている。

しかしながらオゾン水による滅菌には、オゾン水生成装置が必要となり、一般家庭において使用するには難しい状況である。現在、経管栄養チューブの洗浄方法については、一般的に推奨されているのは、食用にも使用されている食酢などを用いたものがある。これは、酢酸の蛋白を凝固させる作用による栄養剤の付着予防と、酢の酸性の静菌作用による雑菌の繁殖抑制を期待したもので、カテーテル内に酢水を充填する方法である。食酢は家庭で容易に手に入れることができ、食用にも使用されているため、安全である。しかし、食酢特有の刺激臭があるため、日常的に使用することは、患者のQOLの低下につながる危険性があり、管理方法が徹底されない恐れもある。今回、食酢や台所用消毒剤の次亜塩素酸ナトリウムの効果の検討と合わせて、台所用の清掃に用いられるクエン酸についてもバイオフィームへの除去効果を検討することとした。クエン酸は酸の非解離型分子の比率が増加して細胞膜を通過し易くなり、抗菌力が高まり、細胞内での代謝による水素イオン濃度の増加に伴う、細胞液の酸性化による核タンパク質の変性などにより殺菌する。これらクエン酸は、食用であり、人体に無害である。またクエン酸に関しては、柑橘系の香りがし、食酢に比べ、患者のQOL低下へとつながる危険性は低いといえる。これらは身近に手に入り、在宅療養を行う地域住民に対しても広く使用できる方法を確立できると考える。

## 2. 研究の目的

ヒトの慢性の細菌感染症、特にカテーテル等の医療器具関連感染の多くは、弱毒菌が主体のバイオフィームが関連しているが、バイ

オフィルム中の細菌に関しては抗菌薬や消毒薬が効きにくいことも知られている。本研究では、日頃から患者と関わることの多い看護師が行う看護ケアを通して、バイオフィルムが関連する感染症を予防するための細菌除去に有効な方法について検討することを目的とする。

### 3. 研究の方法

バイオフィルム中の細菌に関しては抗菌薬や消毒薬が効きにくいことが知られている。そのため、本研究では、まず、実際のカテーテル上に形成されるバイオフィルムの状態を再現するバイオフィルム形成モデルを確立し、抗菌効果が期待されるオゾン水やその他簡単に手に入れることのできるクエン酸や食酢などを用いて、バイオフィルム中の細菌除去への有効性の検討を以下のように行った。

緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa* PAO1株)を一晩培養し培養液を調製した。その一晩培養液から吸光度 (Optical Density 600 nm; OD<sub>600</sub>)=0.1 になるように菌液を希釈した。吸光度 OD<sub>600</sub>=0.1 の菌液の濃度をプレート法にて計測した。

シリコンディスク上でのバイオフィルム形成は、以下のように準備した。96-well プレートの各 well に適するように、シリコンシートをパンチャーでパンチし、シリコンディスクを作製した。その後、オートクレーブで 121、20 分間滅菌後、シリコンディスクを滅菌 96-well プレートの各 well に入れた。シリコンディスクに細菌が付着しやすいようウシ血清で処理した。適量の菌懸濁液を加え 30、48 時間培養し、バイオフィルムを形成させた。バイオフィルムを形成したシリコンディスクは生理食塩水で軽く洗った後、実験に用いた。バイオフィルムの形成は、サフラニン染色で確認した。また、Filmtracer™ Biofilm stains (ライフテクノロジーズジャパン) 蛍光顕微鏡によってもバイオフィルムの形成を確認した。

バイオフィルムの形成をおこなったシリコンプレートに対して、高齢者や一般の人が家庭でも手軽に手に入れることが可能である、クエン酸、食酢等の溶液を加え、静置した際にどの程度除去できるのか検討した。コントロールとして次亜塩素酸ナトリウムを用いた。次亜塩素酸ナトリウムと同等のレベルでバイオフィルムが除去できるかの検討を行った。

溶液を加えたのち、2 時間静置した。その後、シリコンシートを 3 回軽く洗浄し、クリスタルバイオレットを加え、バイオフィルムを染色した。その後 DMSO を加え、クリスタルバイオレットを溶出させ、バイオフィルムの残存について検討した。

また、3M™ クリーントレース™ ATP 測定機器ルミノメーターを使用して、シリコンシート

上に残されたバイオフィルムの菌量を測定した。

### 4. 研究成果

#### バイオフィルムの形成

シリコンシート上に形成されたバイオフィルムに関して、10%クエン酸水溶液、食酢、次亜塩素酸ナトリウム配合の台所用漂白剤を加え、それらのバイオフィルム除去効果を調べた。

シリコンディスク上にバイオフィルムが形成されていることは、サフラニン染色、Filmtracer™ Biofilm stains (ライフテクノロジーズジャパン) 蛍光顕微鏡によってもバイオフィルムの形成を確認した。

#### バイオフィルム除去効果

シリコンシート上に形成されたバイオフィルムに関して、10%クエン酸水溶液、食酢、次亜塩素酸ナトリウム配合の台所用漂白剤を加え、それらのバイオフィルム除去効果を調べた。溶液を加えたのち、2 時間静置した。

クエン酸水溶液を用いた場合の効果に関して、処理後の菌量の測定結果は、DMSO によるバイオフィルム残存量の結果と 3M™ クリーントレース™ ATP 測定機器ルミノメーターを使用した場合の結果でばらつきがみられた。

また、食酢に関しては、次亜塩素酸ナトリウム配合の台所用漂白剤を用いた場合と同程度に近い結果が得られた。しかしながら、安定した結果が得られておらず、引き続き検討をしていく必要がある。

#### 今後の課題

バイオフィルムを単一の細菌で作成したが、実際は複数の細菌や真菌の複合によりバイオフィルムは形成される。今後は実際使用後にバイオフィルムに汚染されているチューブ類等を用いて、除去効果が安定して得られるかどうかの検討を行っていく必要がある。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 0 件)

[学会発表](計 0 件)

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

鈴木 美奈 (SUZUKI, Mina)  
浜松医科大学・医学部・准教授  
研究者番号：40622824

##### (2) 研究分担者

該当なし

##### (3) 連携研究者

永田 年 (NAGATA, Toshi)  
浜松医科大学・医学部・教授  
研究者番号：90275024

##### (4) 研究協力者

該当なし