

平成 30 年 6 月 21 日現在

機関番号：32645

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10952

研究課題名(和文)細菌負荷創傷に対するリアルタイムな評価法の確立とその臨床応用

研究課題名(英文) Establishment of real-time evaluation method for bacterial-loaded wounds and its clinical application

研究代表者

小野 紗耶香 (Ono, Sayaka)

東京医科大学・医学部・講師

研究者番号：40421086

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：今日まで創傷治癒における局所感染評価は、医師の経験に基づく以外に方法がなかった。本研究の目標は創傷の新しいリアルタイム評価方法を確立することである。国内および世界規模で創傷の抗生物質治療の使用の最適化を目指したいと考えた。pH値の変化と細菌の増殖との間の関連性を調べるために、局所的に感染した創傷等価モデルとしてin vitro試験を行った。培養期間とともに細菌数およびpH値が増加した。pH値と細菌数との間に正の相関があった。これらの結果から、創傷のpH値は、創傷における生存細菌数および細菌増殖率と相関することが結論付けられた。創傷のpH値の変動に細菌が関わっていることが確認された。

研究成果の概要(英文)：To date no local infection assessment in wound healing was available except by doctor's experience. The goal of this researcher is to establish a new real-time evaluation method for wounds. I wanted to optimize the use of wound antibiotic therapy both domestically and worldwide. In order to investigate the relationship between pH value change and bacterial growth, an in vitro test was conducted as a locally infected wound equivalent model. The number of bacteria and the pH value increased with the culture period. There was a positive correlation between pH value and bacterial count. From these results it was concluded that the pH value of the wound correlates with the number of viable bacteria and the bacterial growth rate in the wound. It was confirmed that bacteria were involved in the fluctuation of the pH value of the wound.

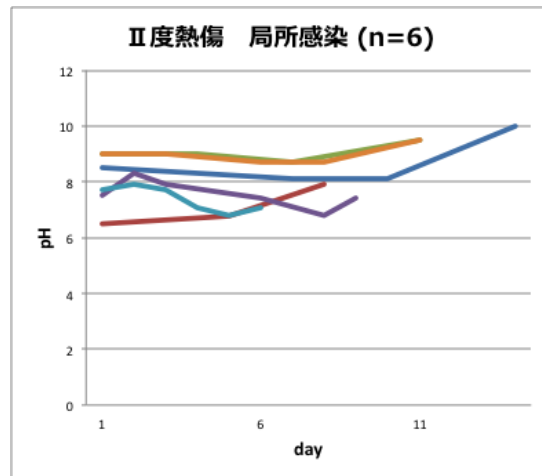
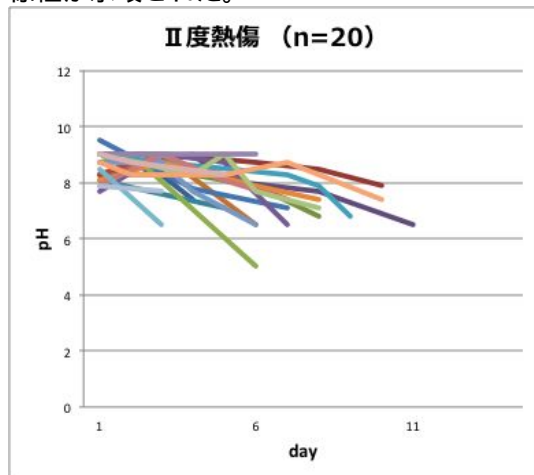
研究分野：形成外科学分野

キーワード：創傷治癒学 感染症 細菌 バイオフィルム 浸出液

### 1. 研究開始当初の背景

近年、難治性の創傷、特に局所の細菌負荷・局所感染を併発している創傷の治療には難渋し、また、耐性菌症例も増加しており院内感染の面からも大きな問題である。これらの創傷を持つ患者は、糖尿病や末梢循環障害を基礎疾患に持つことが多いため、一度創傷が難治化すると長期の治療期間を要することとなり、医療経済的にも大きな問題となる。これらの創傷において、細菌は biofilm を形成し、さらに治療抵抗性となる。これらの問題の解決のためには、創傷への細菌負荷の状態・biofilm 形成を如何に早期にリアルタイムに検知して適切な治療開始を行うことがしかし、細菌負荷・局所感染の検知には、現状臨床医の経験的診断が大きく、治療開始または治療の変更の時期は不明確である。特に、創傷治癒に問題とならない bacterial contamination の段階で、細胞毒性を有する抗菌剤を使用すれば創傷治癒の遅延につながる。逆に critical contamination、local infection となってしまうと、治療介入が遅いこととなる。biofilm の形成の検知に関しては、電子顕微鏡検査で確認するしか無く簡便な方法がいまだ無い。経験のある医療者は、創の見た目ですれらの状況を感じていると言わざるを得ない。具体的には、創の凹凸感や色調、浸出液の状態、粘度などであるが、これらは未だ客観的な定量化はなされていない。

2015 年、研究代表者らは、熱傷創の浸出液の pH を測定した。治癒に進むにつれて、pH が減少することを確認した。さらに表皮ブドウ球菌、黄色ブドウ球菌の局所感染が生じた場合には、pH が局所感染の臨床所見の出現前に上昇することを確認し、これらを報告した (Burns, 2015)。創傷の浸出液の pH が推移していくこと、そして pH と感染との関係性が示唆された。



### 2. 研究の目的

これまでに細菌負荷された創傷、局所感染に移行するような創傷に対する客観的な評価方法を研究されたことはない。細菌負荷による難治性化の要因は何か。早期に、客観的に把握することはできないだろうかと考え、本研究の目的とした。創傷治癒環境と感染の関係を明らかにすることで、至適なタイミングでの創傷治療開始、治療方法の変更へとつながることができる。それはすなわち至適な創傷治療方法の確立へと考えると考えた。

### 3. 研究の方法

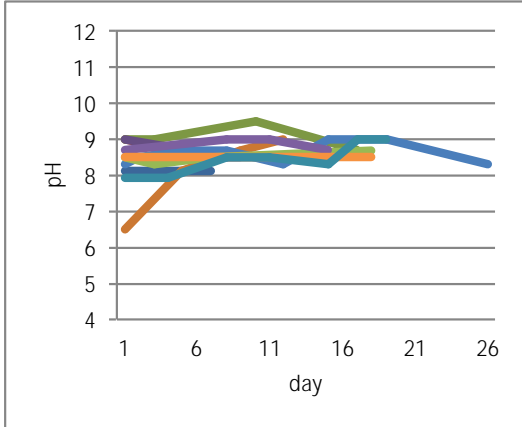
(1) 陰圧閉鎖療法をおこなった慢性潰瘍 8 例を対象とした。交換の際に浸出液の pH を測定した。

(2) 緑膿菌標準株 (ATCC 10145TM)、緑膿菌 PA01 株 (東京医科大学微生物学分野所蔵) で 576 サンプル作成。培養実験を行なった。

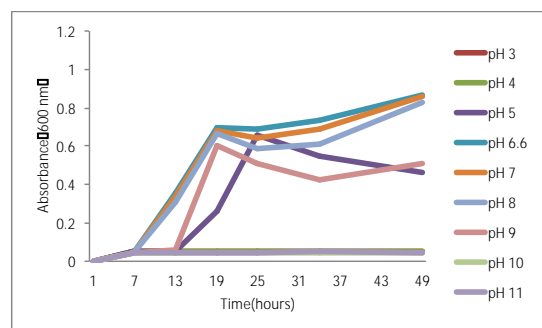
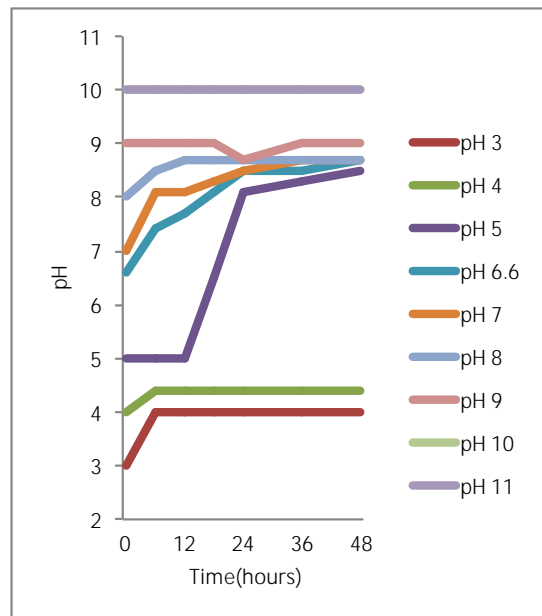
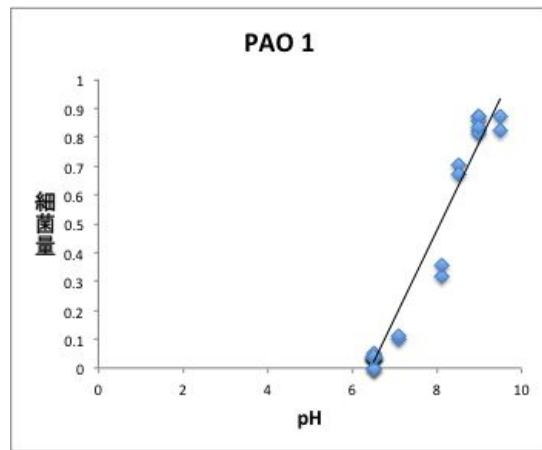
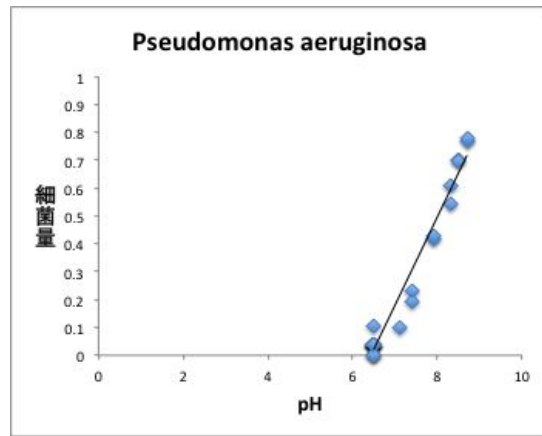
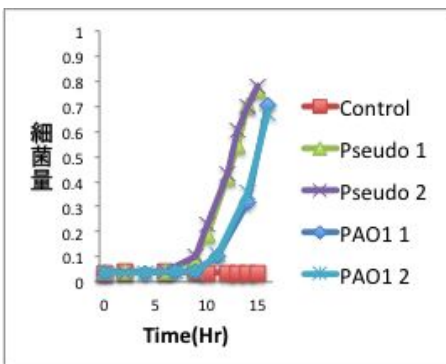
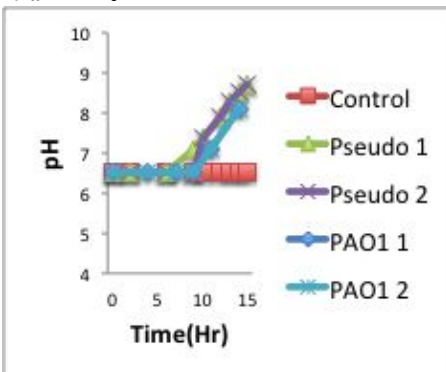
(3) 表皮ブドウ球菌株 (ATCC 14990TM)、黄色ブドウ球菌株 (ATCC 12600TM)、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌株 (ATCC BAA-696TM) で 864 サンプル作成。培養実験を行なった。

#### 4. 研究成果

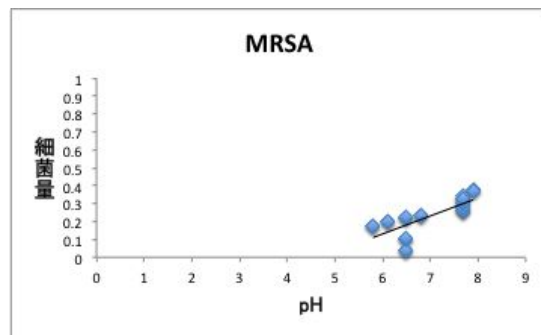
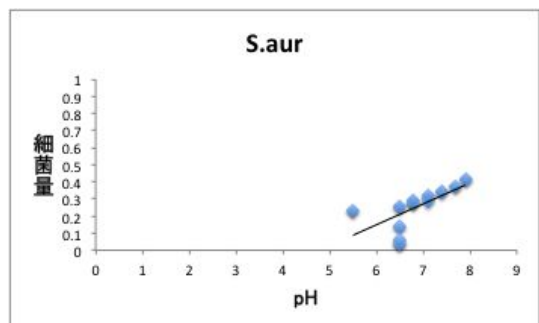
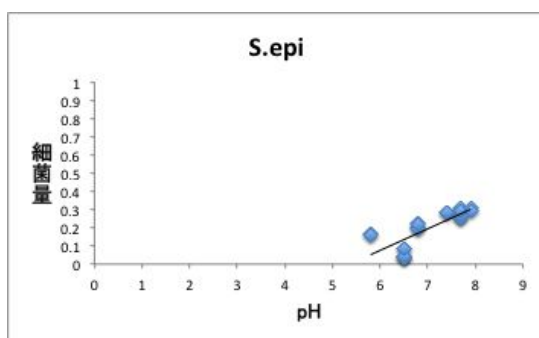
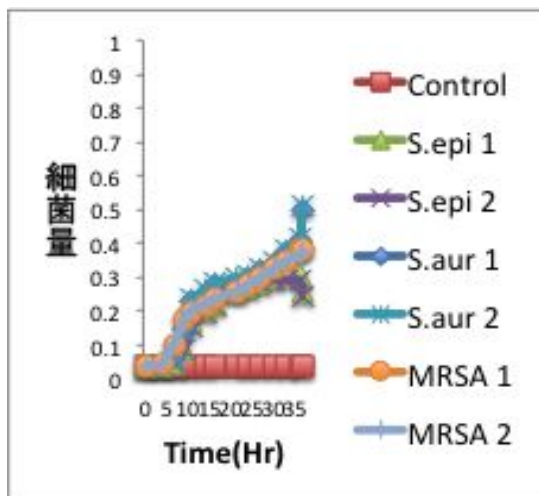
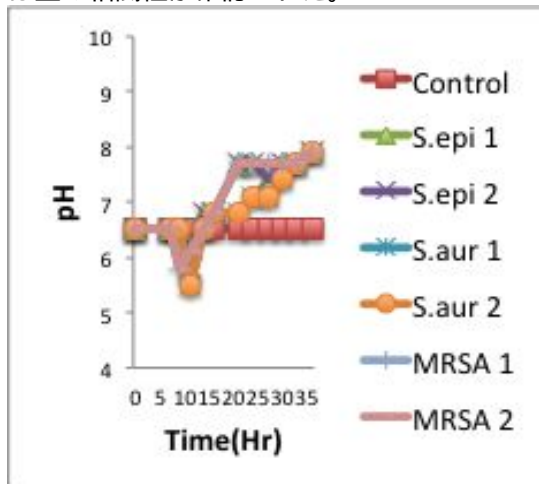
(1) 局所感染を生じた症例は認めなかった。初診時の pH は 6.5 から 9.5 の範囲で平均 8.55。pH の最大値は 9.5、最小値は 6.5。慢性潰瘍の収縮にともない、pH 減少の傾向を認めた。酸性創環境は様々な観点から創傷治癒に影響を与えることが報告されている。熱傷傷で得た結果よりも、全体的に pH は高値であった。肉芽化へ進むことで pH は高くなる可能性が推察された。



(2) 緑膿菌標準株及び PAO1 では、培養時間とともに細菌数の指標である吸光度は上昇、pH も上昇した。細菌数と pH の両者には正の相関性が確認された。設定 pH 培地を作成したところ、緑膿菌標準株では養時間とともに、pH は 8~9 へと収束していくことが確認された。さらに収束した状態では細菌数の増加を確認した。



(3)表皮ブドウ球菌株、黄色ブドウ球菌株、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌株では、培養時間とともに、細菌数の指標である吸光度は上昇、pH も上昇した。細菌数と pH の両者には正の相関性が確認された。



これらの結果から、創傷の pH 値の変動に細菌が関わっていることが確認された。pH 値は創傷における生存細菌数および細菌増殖率と相関することが結論付けられた。

## 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)

[学会発表](計7件)

小野 紗耶香、ブドウ球菌局所感染における pH 測定の有用性に関する検討、第 26 回日本形成外科学会基礎学術集会、2017

小野 紗耶香、細菌負荷創傷におけるリアルタイムな評価法の確率とその臨床応用、第 9 回西新宿形成外科フォーラム、2017

小野 紗耶香、パネルディスカッション 2「熱傷患者における感染症対策」、第 43 回日本熱傷学会総会・学術集会、2017

Sayaka Ono、Change of pH and Pseudomonas aeruginosa growth in liquid media、19th International Conference on Infection Diseases、2017

小野 紗耶香、緑膿菌コロニゼーション時の pH の推移、第 46 回日本創傷治癒学会、2016

小野 紗耶香、緑膿菌コロニゼーションにおける pH 測定の有用性に関する検討、第 25 回日本形成外科学会基礎学術集会、2016

小野 紗耶香、NPWT を使用した慢性潰瘍における pH の検討、第 8 回日本創傷外科学会総会学術集会、2016 年

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

小野 紗耶香 (ONO, Sayaka)  
東京医科大学・医学部・講師  
研究者番号： 40421086

### (2)研究分担者

今井 龍太郎 (IMAI, Ryutaro)  
東京医科大学・医学部・講師  
研究者番号： 80384949

江原 友子 (EHARA, Tomoko)  
東京医科大学・医学部・兼任助手  
研究者番号： 40468658

松村 一 (MATSUMURA, Hajime)  
東京医科大学・医学部・教授  
研究者番号： 80256263

(3) 連携研究者

松本 哲哉 (MATSUMOTO, Tetsuya)  
東京医科大学・医学部・教授  
研究者番号： 10256688