

令和 4 年 6 月 15 日現在

機関番号：32202
研究種目：若手研究
研究期間：2018～2021
課題番号：18K18401
研究課題名（和文）超音波エネルギーを用いたカテーテル関連バイオフィーム血流感染症の新規予防法の開発

研究課題名（英文）Development of a Novel Prevention Method for Catheter-Associated Biofilm Bloodstream Infection Using Ultrasound Energy

研究代表者
鯉淵 晴美（Koibuchi, Harumi）
自治医科大学・医学部・准教授

研究者番号：20382848
交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,900,000円

研究成果の概要（和文）：期間全体を通して超音波照射によるバイオフィーム形成阻害効果を確認した。6穴wellにおいて、照射強度が10-20mW/cmの非常に弱い強度でも、形成阻害効果を確認することができた。形成阻害にもっとも有用なパラメーターはDuty比とPRTである可能性がしめされた。カテーテル内腔・外壁への照射効果も検討した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

病院内では、体内にカテーテルを挿入して治療を行うことも少なくない。このカテーテルに細菌が感染して発症する「カテーテル関連血流感染症」は治療が難しい感染症のひとつであり、発症すれば入院期間の延長や医療費増加にかかわる。また、カテーテルに細菌が感染しバイオフィームを形成するとさらに治療は難しくなる。本研究は、超音波照射による細菌のバイオフィーム形成阻害効果を検討することによって、このカテーテル関連血流感染症の予防・治療に役立てようとするものである。

研究成果の概要（英文）：The inhibition of biofilm formation by ultrasound irradiation was confirmed throughout the entire period. Biofilm formation inhibition was expected even with weak intensity ultrasound on the 6-well plates. The most useful parameters for inhibition of biofilm formation may be duty ratio and PRT. Irradiation of the catheter lumen and outer wall was also examined.

研究分野：超音波医学 院内感染対策

キーワード：超音波 バイオフィーム カテーテル関連血流感染症 表皮ブドウ球菌 治療

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

カテーテル関連バイオフィーム血流感染症(以下 CRBBSI)は、細菌が自ら産生するバイオフィームに覆われるため抗菌薬に対して難治性であり、有効な治療法は確立されていない。一方、超音波は診断ツールとして汎用されているが、その条件によっては有用な生体反応を惹起する。これまでの研究は、いずれもすでに形成されたバイオフィームを超音波で破壊するものであることから臨床応用はほど遠く、また CRBBSI を念頭においた研究もなされていない。患者のカテーテル挿入部に照射器で超音波を照射し、バイオフィーム形成が予防できれば、抗菌薬の投与を減らし、入院期間の短縮や予後改善につながる事が期待できる。

2. 研究の目的

バイオフィーム形成阻害に必要な最低超音波照射エネルギー量を決定し、得られた条件下で細菌そのものに及ぼす超音波エネルギーの影響を明らかにする。その上で、中心静脈カテーテル内のバイオフィーム形成に対する超音波エネルギーの影響を明らかにすることである。以上の検討により、超音波を用いたバイオフィーム形成予防法やCRBBSI発症予防法を確立するとともに、小型超音波照射器の開発を目指す。

3. 研究の方法

(1) 6穴 well での形成阻害効果確認(先行研究参考)

6穴 well 内に表皮ブドウ球菌菌液をいれ、超音波を照射した。照射後のバイオフィーム量をクリスタルバイオレットによる染色法で測定した。

超音波照射条件

(周波数 1MHz, Duty 比 20%, パルス繰り返し周期 (PRT)10ms, 印加電圧 5Vpp, 照射時間 1200 秒) 表皮ブドウ球菌の菌液に Sound Cell Incubator (MU 研究所製) を使って上記条件で超音波を照射した。菌液準備後 1 時間後の 1 回照射と、菌液準備後 1 時間後およびその 3 時間後の 2 回照射を行った。

(2) 6穴 well での形成阻害効果確認(照射条件を変化)

超音波照射条件のパラメーターのうちいずれがバイオフィーム形成阻害に影響しているのかを検討した。超音波強度を一定にし、Duty 比を変化させたシーケンス、PRT を変化させたシーケンスでバイオフィーム形成阻害効果を比較した。

(3) 照射前後での細菌数の変化

(4) カテーテルへの超音波照射

カテーテルへの効率的な超音波照射方法の検討

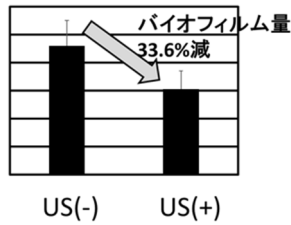
カテーテル内腔への照射

カテーテル外側へのバイオフィーム形成とその定量方法検討

4. 研究成果

(1) 6穴 well での形成阻害効果確認(先行研究参考)

超音波照射によるバイオフィームの減少率は、2 回照射で 33.6%、1 回照射で 17.9%であった。短い時間の照射でもバイオフィーム生成の初期段階に照射すれば、バイオフィーム生成阻害効果が期待できた。すなわち、細菌の well 底面への付着が超音波の振動によって妨げられていることが示唆された。



菌液に超音波（US）20分2回照射することで、形成されたバイオフィームは33.6%減少した。
=バイオフィーム形成が阻害された。

(2) 6穴wellでの形成阻害効果確認（照射条件を変化）
超音波照射条件のパラメーターのうちいずれがバイオフィーム形成阻害に影響しているのかを検討した。超音波強度を一定にし、Duty比を変化させたシーケンス、PRTを変化させたシーケンスでバイオフィーム形成阻害効果を比較した。PRTが一定のときはDuty比が高いほうが、Duty比が一定のときはPRTが短いほうがバイオフィーム阻害効果が大きい傾向にあった。すなわち、超音波照射強度が一定であれば連続波に近い超音波照射条件のほうが効果が大いということが示唆された。

また、 $I_{SATA}=30\text{mW}/\text{cm}^2$ のとき、Duty比は40%あるいは60%のときにもっともバイオフィーム形成阻害効果が高かった。以上より、バイオフィーム形成阻害に有用なパラメーターはDuty比あるいはPRTということがわかった。

(3) 照射前後での細菌数の変化

超音波照射前後で菌液内の細菌数に変化はなかった。これは超音波照射によって細菌そのものは死滅しない、あるいは死滅した菌と超音波照射によって底面から剥離して菌液中に浮遊した菌が相殺されているためと推測した。

(4) カテーテルへの超音波照射

カテーテルへの効率的な超音波照射方法の検討

カテーテル内腔への照射

カテーテル外側へのバイオフィーム形成とその定量方法検討

(5) 今後に向けての準備

カテーテル以外の管腔構造の医療材料（気管チューブ、尿道カテーテル）についても準備を開始し、超音波照射方法を検討している途中である。

バイオフィームの阻害効果を可視化できるよう、準備を整えた。また、超音波照射によるバイオフィーム形成阻害効果の機序の検討を開始した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

| | |
|---|---------------------|
| 1. 著者名 鯉淵 晴美 | 4. 巻 32 |
| 2. 論文標題 表皮ブドウ球菌が産生するバイオフィルムの超音波照射による破壊効果 | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 超音波テクノ | 6. 最初と最後の頁 76-78 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし | 査読の有無 無 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名 Koibuchi H, Fujii Y, Sato'o Y, Mochizuki T, Yamada T, Cui L, Taniguchi N | 4. 巻 48 |
| 2. 論文標題 Inhibitory effects of ultrasound irradiation on Staphylococcus epidermidis biofilm | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 J Med Ultrason | 6. 最初と最後の頁 439-448 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10396-021-01120-3. | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著 - |

| | |
|---|---------------------|
| 1. 著者名 Koibuchi H., Fujii Y., Hirai Y., Mochizuki T., Masuda K., Kotani K., Yamada T., Taniguchi N | 4. 巻 45 |
| 2. 論文標題 Effect of ultrasonic irradiation on bacterial biofilms. J Med Ultrasonics 45 | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 J Med Ultrason | 6. 最初と最後の頁 25-29 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10396-017-0801-x | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 鯉淵 晴美 |
| 2. 発表標題 超音波照射による細菌のバイオフィルム形成阻害について -有効なパラメーターの検討- |
| 3. 学会等名 日本超音波医学会関東甲信越地方会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 鯉淵 晴美 |
| 2. 発表標題 低出力超音波パルス治療器を利用したカテーテル関連バイオフィーム血流感染症の新規予防法の開発 |
| 3. 学会等名 超音波治療研究会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Harumi Koibuchi |
| 2. 発表標題 Inhibitory effect of early and short time ultrasound irradiation on the biofilm formation of Staphylococcus epidermidis |
| 3. 学会等名 The 13th congress of the asian federation of societies for ultrasound in medicine and biology (AFSUMB 2018) (国際学会) |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 鯉淵 晴美 |
| 2. 発表標題 超音波エネルギーが細菌のバイオフィーム形成阻害に及ぼす影響 |
| 3. 学会等名 日本超音波医学会第91回学術集会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 鯉淵 晴美 |
| 2. 発表標題 表皮ブドウ球菌が産生するバイオフィームに対する 超音波照射の影響 |
| 3. 学会等名 基礎技術研究会 |
| 4. 発表年 2018年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-------|---|--|----|
| 研究協力者 | 藤井 康友 (Fujii Yasutomo) (00337338) | 京都大学大学院・人間健康科学系専攻 総合医療科学コース 臨床系医療科学講座 臨床画像検査解析 学分野・教授 (14301) | |
| 研究協力者 | 望月 剛 (Mochizuki Takashi) | | |
| 研究協力者 | 牧野 穂高 (Makino Hodaka) | | |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|---------|---------|