

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年5月24日現在

機関番号：15301
 研究種目：基盤研究(C)
 研究期間：2010～2012
 課題番号：22591791
 研究課題名（和文） 長期尿路カテーテル留置患者に対する院内感染防止対策に関する基礎的・臨床的研究
 研究課題名（英文） Basic and clinical research on infection control measures for long-term urinary catheterized patients
 研究代表者
 石井 亜矢乃（ISHII AYANO）
 岡山大学・岡山大学病院・助教
 研究者番号：00423294

研究成果の概要（和文）：

長期尿路カテーテル留置患者のQOLの向上と科学的根拠に基づいた感染管理を実施することが求められている。本研究の分子疫学的解析において、同一患者の異なる部位での感染や異なる患者間での交差感染の可能性が示唆された。一方でクランベリーは膿尿を改善させ、尿路カテーテルの閉塞を防ぐことで、症候性尿路感染症の発症を予防する可能性が示唆された。標準予防策の遵守を基本とする包括的な感染管理の実践が重要であると考えられた。

研究成果の概要（英文）：

It is required to improve the quality of life and evidence-based infection control measures of long-term urinary catheterized patients. In this study, molecular epidemiological analyses revealed identical bacteria isolated from different body sites of each individual and the possibility of cross-infection from patient to patient. The consumption of cranberry juice could prevent symptomatic urinary infections due to reduced pyuria and prevented encrustation and blockage of urinary catheters. It is important that the comprehensive infection control measures based on compliance with standard precautions were implemented for long-term urinary catheterized patients.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
2012年度	800,000	240,000	1,040,000
総計	2,800,000	840,000	3,640,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・泌尿器科学

キーワード：尿路感染症、細菌、尿路カテーテル、院内感染、感染管理、パルスフィールドゲル電気泳動法、クランベリー、バイオフィルム

1. 研究開始当初の背景

岡山大学病院は地域の中小規模病院との

連携を図っており、地域医療連携下における包括的な感染管理の実践は感染拡大防止

のために取り組むべき重要な課題である。

岡山大学病院と地域連携下にある中規模病院の障害者病棟においては、脳神経疾患に伴う遷延性意識障害や頸髄損傷等を基礎疾患とする患者が多いため、尿路カテーテル留置を余儀なくされるケースが多く、カテーテル閉塞の頻度は高い。2009年に行った尿路カテーテル関連感染（CAUTI）サーベイランスの結果では、該当患者25名全員に細菌尿が確認された。複数菌種が分離された患者は76%で、ESBL（基質拡張型β-ラクタマーゼ）産生大腸菌、多剤耐性緑膿菌、MRSAも分離されており、耐性菌が蔓延している可能性も考えられた。

尿路に留置されたカテーテルはバイオフィーム形成の場となり、治療に難渋する。クランベリーには大腸菌の付着阻害作用、バイオフィームの形成抑制作用が認められている。また、クランベリーによる尿の酸性化は、シュウ酸カルシウムや尿酸などの代謝性結石の析出をおさえ、バイオフィーム形成の場を作らないという働きがある。クランベリーのバイオフィーム形成抑制に着目し、長期尿路カテーテル留置患者の症候性尿路感染症に対する予防法を確立することは、医療経済的にも意義が高いと考えた。

2. 研究の目的

長期尿路カテーテル留置患者を対象として、院内感染防止対策を講じるための実態調査を行う。基礎的アプローチとして細菌学的・分子疫学的エビデンスを得るための実験研究を行う。臨床的アプローチとして長期尿路カテーテル留置患者における症候性尿路感染症発症予防のための効果的なクランベリーの投与方法を確立する。これらのエビデンスに基づいて、病院全体ならびに地域医療における感染管理および感染制御に貢献することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 細菌の検出状況に関する実態調査

① 対象

障害者病棟の長期尿路カテーテル留置患者16名を対象とした。患者あるいは患者が判断できない場合には患者の家族に、文書と

口頭で実態調査の目的・方法について説明し、参加の同意が得られた後に調査を実施した。なお、個人情報や検査データなどは匿名化し、外部漏洩することが無いよう厳重な管理を行った。

② 細菌培養同定

尿は採尿ポートから採取し、細菌培養同定検査を行った。口腔内検体は口腔ケア実施後4時間以降に、日和見感染検査キット（BML社）の滅菌スワブを用いて、有歯顎患者（上顎臼歯部5・6・7番相当部）は歯垢ならびに無歯顎患者は頬側歯頸部の口腔粘膜を5往復擦過し採取した。気管内検体は気管カニューレあるいは鼻腔経路で下咽頭から気道内の痰を吸引し、採取した痰に滅菌スワブを浸漬させた。そのスワブ検体はカルチャー用滅菌チューブに挿入し、専用の輸送封筒に入れて室温にて送付し、BML社に分離・同定と簡易定量（+ : 10^3 , ++ : $10^3 \sim 10^5$, +++ : 10^5 CFU/mL）を委託した。検査対象菌はメチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）、メチシリン感受性黄色ブドウ球菌（MSSA）、緑膿菌（*Pseudomonas aeruginosa*）、セラチア菌（*Serratia marcescens*）、肺炎球菌（*Streptococcus pneumoniae*）、インフルエンザ菌（*Haemophilus influenzae*）、肺炎桿菌（*Klebsiella pneumoniae*）、モラクセラ・カタラーリス（*Moraxella catarrhalis*）、β溶血性ストレプトコッカス属の9種とした。なお、尿・口腔内・気管内検体は同日に採取した。

(2) 基礎的アプローチ

① パルスフィールドゲル電気泳動法（PFGE解析）

PFGEはBIO-RAD社のプロトコールに準じた。ゲルブロックを制限酵素（緑膿菌には *Spe* I、MRSAには *Sma* I）処理後、アガロースゲルに埋め込み、Bio-Rad CHEF DR-IIIを使用して泳動を行った。泳動終了後、ゲルをSYBR Green Iで染色し、デンドログラムを作成した。

② バイオフィームアッセイ

96穴マイクロプレートを用い、供試菌をトリプトソイブイオン培地中、37°Cで静置培養した。48時間後に形成されたバイオフィームをクリスタルバイオレットで染色、エタノ

ール溶出液の吸光度 (OD₅₇₀ 値) を測定した。

③ フローセルシステム (改良型マイクロデバイス) におけるバイオフィルム観察

P. aeruginosa OP14-210 株および GFP (緑色蛍光タンパク質) 産生 OP14-210 (pMF230) 株を用いた。改良型マイクロデバイス (薬剤混合タイプ) に一夜培養の菌液を接種して、37°C、2 時間放置したのち、人工尿を 20 mL/hr で灌流させ、薬剤無添加と薬剤作用後のバイオフィルムを共焦点レーザー走査型顕微鏡 (CLSM: Zeiss LSM 510) にて観察した。GFP 非産生株の場合は、蛍光染色キット (Molecular Probes 社) を用いてバイオフィルム内の生菌と死菌を染め分けた。画像解析 (3 次元画像構築) には、Imaris (Bitplane 社) および MetaMorph (Molecular Devices 社) を用いた。

(3) 臨床的アプローチ

① 対象

長期尿路カテーテル留置患者 16 名を対象とした。主治医、患者あるいは患者が判断できない場合には患者の家族に、研究の目的・方法について説明し、参加の同意が得られた後に調査を実施した。なお、個人情報や検査データなどは匿名化し、外部漏洩することが無いよう厳重な管理を行った。

② クランベリー投与と尿性状の検査

50% クランベリージュース 160 g / 日投与し、投与開始前、投与直後、投与 2 週間後に、それぞれ投与前と投与 1、2、4、8、12 時間後の尿 pH、尿中細菌の菌種・菌数および尿中白血球数を測定した。

③ カテーテルに付着したバイオフィルムの厚み

定期交換もしくは閉塞による交換時に抜去したカテーテルの先端 5 cm 部分を、2-3 mm 幅に切除し、1% グルタルアルデヒド含有リン酸緩衝溶液に保存した。バイオフィルムの厚さは共焦点レーザー走査型顕微鏡を用いて測定した。

4. 研究成果

(1) 細菌の検出状況に関する実態調査

① 尿中・口腔内・気管内細菌の検出状況

長期尿路カテーテル留置患者の全員が尿培養で総菌数 10^4 CFU/mL 以上の尿路感染症を認め、85% が口腔内や気管内に日和見病原菌

(主に緑膿菌、MRSA、セラチア菌) を保有しており、半数以上の患者からいずれの検体においても比較的高い菌数で複数菌種が検出された。尿中 44 株 (緑膿菌 3 株 6.8%、腸球菌 11 株 25.0%、大腸菌 8 株 18.2%)、口腔内 19 株 (MRSA 7 株 36.8%、緑膿菌 8 株 42.1%)、気管内 14 株 (緑膿菌 6 株 42.9%、MRSA 2 株 14.3%) であった。尿中・口腔内・気管内から同一菌種が検出された患者数は 4 名 (MRSA 1 名、緑膿菌と肺炎桿菌 1 名、緑膿菌のみ 1 名、肺炎桿菌のみ 1 名)、尿・口腔内: 2 名 (緑膿菌 1 名、MRSA 1 名)、尿・気管内: 1 名 (肺炎桿菌 1 名)、口腔内・気管内: 6 名 (緑膿菌 4 名、MRSA 1 名、肺炎桿菌 1 名) であった。なお、2011-2012 年の急性期病院における尿路カテーテル留置の複雑性尿路感染症からの主要分離菌は、腸球菌 12.2% (14 株/115 株) と大腸菌 15.7% (18 株/115 株) であった。急性期病院に比べ慢性期病院では腸球菌と大腸菌の分離頻度は高かった。

(2) 基礎的アプローチ

① PFGE 解析 (類似係数 85% のデンドログラム)

緑膿菌 13 株、MRSA 12 株 (うち 10 株が増殖) を用い、PFGE 解析を行った。緑膿菌は 3 名の口腔内・気管内で同一株 (No. 1, 2, 3)、1 名は高度類似株であった (No. 14) (図 1)。MRSA は 1 名の口腔内・尿で同一株 (No. 4)、2 名の口腔内が高度類似株であった (No. 7 と No. 16) (図 2)。同一患者の異なる部位での感染の可能性や異なる患者間での交差感染の可能性が考えられた。

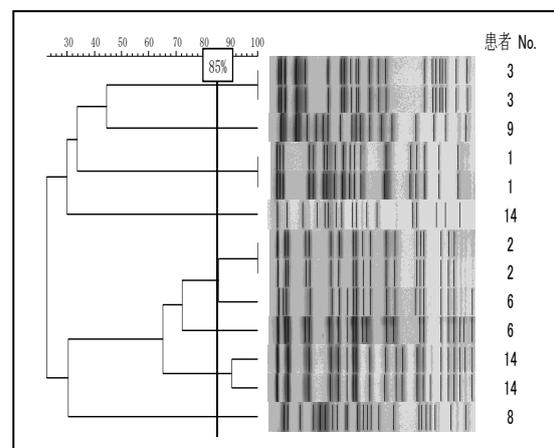


図 1 緑膿菌 13 株のデンドログラム

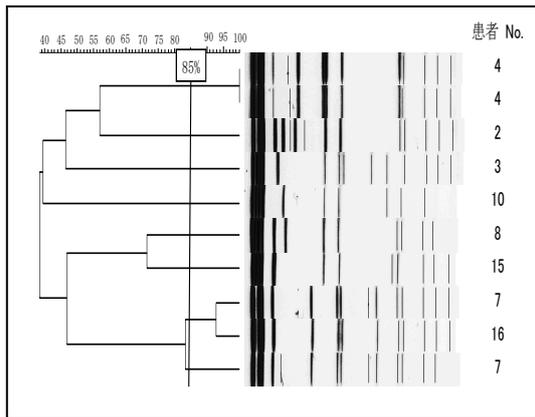


図2 MRSA 10株のデンドログラム

② バイオフィーム形成能

障害者病棟の患者から分離された ESBL 産生大腸菌（産生株）39 株（尿 23 株、喀痰 16 株）・非産生大腸菌（非産生株）32 株（尿 21 株、喀痰 11 株）を対象とし、バイオフィーム形成能を測定した。産生株は非産生株に比較しバイオフィーム形成能が有意に高かった。

③ フローセルシステム（改良型マイクロデバイス）におけるバイオフィーム観察

バイオフィーム形成阻害剤を効率的にスクリーニングすることを目的として、フローセルシステム（*in vitro* 実験系）に用いる新規マイクロデバイスを設計し、2009 年 3 月 10 日には特許申請を行い、2011 年 2 月 4 日に特許を取得した（特許第 4674337 号）。本研究課題の研究期間（2010～2012 年度）にはマイクロデバイスの改良を重ねた。改良型マイクロデバイス（薬剤混合タイプ）を用いて異なる実験条件下において形成された緑膿菌バイオフィームを共焦点レーザー走査型顕微鏡にて観察し、フローセルシステム（人工尿中）におけるバイオフィーム観察の最適化を図った。

(3) 臨床的アプローチ

① 尿性状の変化

健常人 6 名での予備調査でクランベリージュース摂取による尿 pH の下降は認められたが、摂取時間帯、摂取回数による変化は殆ど認めなかった。また、尿路感染症を有する長期尿路カテーテル留置患者（全例経管栄養）8 名での調査では、栄養剤の内容、栄養剤投与前後

で尿 pH に大きな変動はなく、尿路カテーテル留置患者で経管栄養の場合、クランベリージュースは栄養剤投与時期に関係なく摂取してもよいことが推察された。

これらの結果を踏まえ、長期尿路カテーテル留置患者 16 名にクランベリージュースを 1 日 1 回、尿 pH が測定しやすい午前中に投与した。投与前尿 pH は 7.00 であったが、投与直後より下降し、投与 1、2、4、8、12 時間後の測定では、それぞれ 6.33、5.33、7.67、7.33、6.33 であり、投与 2 時間後が最も低値であった。1 カ月間の投与で浮遊物の減少や検尿沈渣で膿尿の改善を認める症例もあったが、尿培養の結果に変化はなかった。1 年間の投与例（1 名）では、カテーテル閉塞までの期間が投与前 8.3 日、3 週～6 カ月 16.4 日、6～12 カ月 21.9 日と延長し、その有効性を確認した。

② カテーテルに付着したバイオフィームの厚み

16 名のうち 2 名の留置患者が使用したカテーテルに付着したバイオフィームの厚さを共焦点レーザー走査型顕微鏡にて定期的に測定した（図 3）。

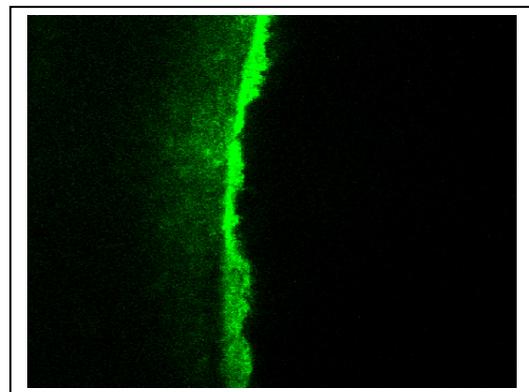


図3 カテーテルに付着したバイオフィーム（共焦点レーザー走査型顕微鏡で観察した代表的な画像）

2～3 mm 幅の切片で最もバイオフィームが厚い部位をそれぞれ測定し、その平均値を求めた。1 名のカテーテルに付着したバイオフィームの厚みはクランベリージュース投与前 9.51～16.09 μm （平均値 12.54 μm ）、5 週後 10.07～16.08 μm （12.03 μm ）、8 週後 9.88～21.82 μm （15.16 μm ）で、もう 1 名は投与前 17.64～22.26 μm （20.29 μm ）、2 週後 7.98～11.65 μm （9.82 μm ）、5 週後 13.33～20.00

μm (16.25 μm)、7 週後 13.76~26.70 μm (21.27 μm)、9 週後 22.96~23.95 μm (23.46 μm)であり、投与前後で厚みの変化は認めなかった。

(4) 考察

長期尿路カテーテル留置患者16名から分離された緑膿菌13株、MRSA 10株を用いてPFGEによる分子疫学的解析を行った。緑膿菌は3名の口腔内・気管内で同一株であり、1名は高度類似株であった。4名の病室は異なっていた。MRSAは1名の口腔内・尿で同一株であり、2名の口腔内で高度類似株であった。高度類似株が検出された2名の入院時期は重なっていたが病室は異なっており、分離日は異なっていた。

口腔内・尿で同一株のMRSAが分離された1名以外は、口腔ケアは医療従事者によって行われていた。同一患者において口腔内と気管内で同一もしくは高度類似株が検出された原因は、誤嚥による可能性、気道から喀出された痰が口腔内に付着・定着した可能性、医療従事者による口腔ケアや気管内吸引操作において清潔操作が不十分であった可能性が考えられた。口腔内と尿において同一株が検出された1名では、患者自身の手指や尿路カテーテルを取り扱った医療従事者の手指あるいは環境を介して異なった部位へ感染した可能性が考えられた。異なった患者間において、口腔内で高度類似株が検出されたが、病室は違うものの同時期に入院しており、医療従事者の手指を介しての直接的な交差感染の可能性や、一旦環境中に付着・生息し、感染した可能性が考えられた。

口腔ケアにブラシを用いた場合、口腔ケア実施者の胸部や患者の左右 90 cm の箇所において口腔内細菌の飛散が確認されている。口腔ケアは口腔周囲だけでなく広い範囲を汚染しているが、口腔ケア時の手袋、エプロン、マスクなどの着用率は気管内吸引操作に比べて低いため、医療従事者の手指を介し直接交差感染を引き起こし、環境中に拡散させる可能性は否定できない。また、MRSA は乾燥に強く、長時間生息していたとの報告もある。

通常、障害者病棟において無症状のときに

は口腔内や気管内の細菌調査を行うことはない。口腔ケアを行う医療従事者は、ケアは口腔内を浄化させる機会として捉えており、気管内吸引操作と同様に口腔内細菌を伝播・拡散させる危険性があることを認識していない可能性がある。日和見病原菌の伝播・拡散防止のためには、障害者病棟の尿路カテーテル留置患者の多くが口腔や気管に日和見病原菌を保有していることを周知させることが重要であり、口腔ケア時においても尿の廃棄や気管内吸引時と同様に、標準予防策の遵守を基本とした感染対策を講じることが必要である。

一方、障害者病棟における患者の基礎疾患は脳神経疾患に伴う遷延性意識障害や頸髄損傷等であり、長期間の尿路カテーテル留置を余儀なくされる。長期尿路カテーテル留置により無症候性尿路感染症が必発し、カテーテル閉塞により症候性尿路感染症を発症する頻度は高い。症候性尿路感染症予防を目的として、長期尿路カテーテル留置患者にクランベリージュースを投与した。1か月間の投与で尿培養の結果やカテーテルに付着したバイオフィルムの厚さに変化はなかったが、浮遊物の減少や検尿沈渣で膿尿の改善を認める症例もあり、1年間の投与例(1名)では、カテーテル閉塞までの期間が延長し、クランベリーの有効性を確認した。今回の検討ではクランベリーにバイオフィルムの形成を抑制する作用は認められなかったが、膿尿を改善させ、尿路カテーテルの閉塞を防ぐことで、症候性尿路感染症発症を予防する可能性が示唆された。

長期尿路カテーテル留置患者は慢性尿路感染症を有し、院内感染の感染源となるため、科学的根拠に基づいた感染管理を実施することが求められている。彼らは尿路感染症だけでなく口腔や気管に日和見病原菌を保有しており、細菌の伝播・拡散による交差感染の可能性あることを医療従事者は認識する必要がある。一方、尿路カテーテルの閉塞により症候性尿路感染症を発症することも多いが、クランベリーは抗菌薬に頼らないカテーテルの閉塞を予防する新規治療法となることが期待される。院内感染対策には標準予防策の遵守を基本とする包括的な感染管理の実践が重要である。

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2件)

- ① Sanchez Z, Tani A, Suzuki N, Kariyama R, Kumon H, Kimbara K: Assessment of change in biofilm architecture by nutrient concentration using a multichannel microdevice flow system. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 115: 326-331, 2013. (査読あり)
- ② 狩山玲子, 公文裕巳: 泌尿器科領域における緑膿菌感染症の特徴と新規治療法開発に向けた基礎的アプローチ. 緑膿菌感染症研究会講演記録 46: 23-28, 2012. (査読なし)

[学会発表] (計11件)

- ① 山本満寿美、岡山大学泌尿器科における尿路感染症分離菌の変遷および薬剤感受性について -2007から2011年-、第61回日本化学療法学会総会、2013/06/05、パシフィコ横浜 (横浜市)
- ② 狩山玲子、医学領域におけるバイオフィルムとその制御法の開発、第86回日本細菌学会総会、2013/03/19、幕張メッセ (千葉市)
- ③ 山本満寿美、長期尿道カテーテル留置患者における痰・歯垢 (口腔粘膜) ・尿から分離されたMRSAと*P. aeruginosa*に関する検討、第29回インフェクションコントロール研究会、2013/03/16、岡山大学医学部 第一臨床講義室 (岡山市)
- ④ 佐古真一、尿路由来メタロ-β-ラクタマーゼ産生緑膿菌のバイオフィルム形成能および分子疫学的検討、第82回日本感染症学会西日本地方会学術集会、2012/11/07、アクロス福岡 (福岡市)
- ⑤ 和田耕一郎、岡山大学泌尿器科における尿管ステント留置症例の臨床的検討、第60回日本化学療法学会学術集会、2012/04/27、長崎ブリックホール (長崎市)
- ⑥ 狩山玲子、泌尿器科領域における緑膿菌感染症の特徴と新規治療法開発に向けた

基礎的アプローチ、第46回緑膿菌感染症研究会、2012/02/17、慶應義塾大学医学部北里講堂 (東京都)

- ⑦ 狩山玲子、*Acinetobacter baumannii* 臨床分離株のバイオフィルム形成能に関する検討、第27回日本環境感染学会総会、2012/02/04、福岡国際会議場 (福岡市)
- ⑧ 山本満寿美、障害者病棟の入院患者における尿・喀痰由来ESBL産生大腸菌のバイオフィルム形成能と分子疫学的解析、第59回日本化学療法学会総会、2011/06/24、札幌コンベンションセンター (札幌市)
- ⑨ 狩山玲子、バイオフィルム形成阻害剤のスクリーニングに有用な新規マイクロデバイスの開発、第26回日本環境感染学会総会、2011/02/18、パシフィコ横浜 (横浜市)
- ⑩ 山本満寿美、長期尿路カテーテル留置患者における歯垢および吸引痰からの日和見病原菌の検出状況、第26回日本環境感染学会総会、2011/02/18、パシフィコ横浜 (横浜市)
- ⑪ 狩山玲子、緑膿菌性バイオフィルム形成阻害剤のスクリーニングにおける新規マイクロデバイスの有用性について、第45回緑膿菌感染症研究会、2011/02/05、仙台国際センター (仙台市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石井 亜矢乃 (ISHII AYANO)
岡山大学・岡山大学病院・助教
研究者番号: 00423294

(2) 研究分担者

狩山 玲子 (KARIYAMA REIKO)
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教
研究者番号: 40112148

苔口 進 (KOKEGUCHI SUSUMU)
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・准教授
研究者番号: 10144776