

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 17 日現在

機関番号：32644

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2015

課題番号：25670768

研究課題名(和文)環境臭気分析による細菌同定法の開発

研究課題名(英文)Development of bacterial identification methods by volatile material analysis

研究代表者

梅澤 和夫(UMEZAWA, Kazuo)

東海大学・医学部・講師

研究者番号：30349344

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：実験モデルとしてE.coli等の8菌種をFBSに懸濁、滅菌ガーゼに散布し培養、揮発性物質分析を行ったところ検出パターンは菌毎に異なっていた。次に広範囲重症熱傷患者18名の病棟環境および熱傷創被覆ガーゼの揮発性物質分析を行った。環境アンモニア濃度は創部デブリードマンおよび皮膚移植時に増加し、創閉鎖後に減少した。死亡例では高濃度が維持された。一方、熱傷創被覆ガーゼの揮発性物質分析ではアソシエーション解析にてヒト由来成分と細菌由来成分を分離し、再解析したところ属の判別は可能であった。しかしながら検討症例が少なく、種の同定には、同種内バリエーションの検討等、更なる検討が必要である。

研究成果の概要(英文)：In experimental model of volatile material analysis was done using 8 species bacteria such as MDRP, MDRA and others. Each bacterium has its own detection pattern of volatile materials. In results of volatile material analysis in 18 cases of severe burn patients, environmental ammonia concentration were correlated closely with clinical course of burn wound condition that ammonia concentration were increased in debridement and skin plantation, and decreased in wound closure. On the other hand, fatal cases were kept high. In analysis of wound gauze, volatile materials were able to separate human and bacterial source using by association rule. Volatile material analysis could distinguish genus of bacteria. However, large number of examinations must be done for decision of bacterial species.

研究分野：救急医学

 キーワード：広範囲重症熱傷 揮発性物質分析 環境揮発性物質 細菌同定 アンモニア アソシエーションルール
 多剤耐性アシネトバクター 多剤耐性緑膿菌

1. 研究開始当初の背景

広範囲重症熱傷患者における創感染の抑制は、患者の予後改善に非常に重要である。起因菌の同定は培養法にて行われるが、30% / 回程度であり、高くはない。一方、創感染により臭気が発生する。臭気は細菌が蛋白質、脂肪酸を分解することにより発生し、菌種特異性が高く、その成分分析により細菌同定も実際に行われている。

2. 研究の目的

本研究では、この臭気に着目し、我々が、独自に開発した、皮膚ガス測定用装置 (passive flux sampler: PFS、皮膚表面に1時間取り付け、PFS と皮膚の間の空間を拡散するガス分子を捕集剤に捕捉、被検物質を抽出し、定量分析する) の技術を応用し、患者周辺環境の揮発性ガスを補足、分析することにより、創部感染を引き起こしている起因菌を定性的に同定し、かつ、経時的に観察することにより、広範囲重症熱傷患者における創感染の定性的起因菌経時モニタリングシステムシステムを開発することにある。

3. 研究の方法

平成 25 年度 : 1) in vitro で緑膿菌、黄色ブドウ球菌、アシネトバクターの純培養下での揮発性ガスを PFS により吸着し、ガスクロマトグラフィー分析により、同定法 (同定物質の特定) を確立する。2) in vitro で混合感染環境下での揮発性ガスを PFS 吸着、ガスクロマトグラフィー分析により、混合培養下における 3 菌種の検出法を確立する。

平成 26 年度 : 1) 重症熱傷センターにおいて PFS による至適環境臭気吸着条件を検討する (吸着時間、患者からの距離、PFS 形状等)。2) PFS にて吸着した環境臭気 (重症熱傷センター) から緑膿菌、黄色ブドウ球菌、アシネトバクターの分離検出と創培養を比較検討する。

平成 27 年度 : 1) PFS による環境臭気経時的モニタリングを行い、揮発ガスの経時動態を明らかにし、創部清潔度、至適包交等について検討する。

4. 研究成果

実験モデルとして E. coli 等の 8 菌種を FBS に懸濁、滅菌ガーゼに散布し培養、揮発性物質分析を行ったところ検出パターンは菌毎に異なっていた。次に広範囲重症熱傷患者 18 名の病棟環境および熱傷創被覆ガーゼの揮発性物質分析を行った。環境アンモニア濃度は創部デブリードマンおよび皮膚移植時に増加し、創閉鎖後に減少した。死亡例では高濃度が維持された。一方、熱傷創被覆ガーゼの揮発性物質分析ではアソシエーション解析にてヒト由来成分と細菌由来成分を分離し、再解析したところ属の判別は可能であった。しかしながら検討症例が少なく、種の同定には、同種内バリエーションの検討等、更なる検討が必要である。

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 7 件)

1. Kimura K., Sekine Y., Umezawa K., (3 番目), Asai S., Miyachi H., (他 4 名), A study on clinical application of ammonia emanating from severe burn patient during critical care. におい・かおり学会誌、査読有、印刷中、2016.
2. Umezawa K., Asai S., Miyachi H. (他 6 名), Outbreak of drug-resistant *Acinetobacter baumannii* ST219 caused by oral care using tap water from contaminated hand hygiene sinks as a reservoir. Am. J. Infect. Control, 査読有、43、1249-1251、2015
3. Asai S., Umezawa K. (5 番目), Miyachi H. (他 7 名) Sonographic evaluation

of the treatment response of the submandibular glands in patients with immunoglobulin G4-related disease. *J Ultrasound Med*, 査読有、34, 783-788, 2015.

4. Asai S., Umezawa K.(2 番目), Miyachi H. (他 4 名), An outbreak of bla_{OXA}-51-like- and bla_{OXA}-66-positive *Acinetobacter baumannii* ST208 in the emergency intensive care unit. *J Med Microbiol*, 査読有、63, 1517-1523, 2014.
5. 大橋茉耶, 浅井さとみ, 梅澤和夫 (3 番目), 宮地勇人 (他 6 名), 熱傷センターにおける多剤耐性 *Acinetobacter baumannii* の多発とその感染制御、熱傷、査読有、39, 15-21, 2013
6. 岩下英夫, 浅井さとみ, 梅澤和夫 (3 番目), 宮地勇人 (他 4 名), 歯科診療ユニットにおける細菌学的環境調査に基づく効果的な消毒法の検討. *環境感染誌*, 査読有、2013; 28(5): 273-279.
7. 高橋万葉, 関根嘉香, 古川英伸, 浅井さとみ, 宮地勇人, ヒト皮膚から放散するアセトアルデヒドの室内空气中濃度に及ぼす影響、室内環境、査読有、室内環境、2013;16(1):15-22

[学会発表](計 17 件)

1. Kimura K, Furukawa S, Takahashi M, Sekine Y, Measurement of diacetyl and 2-nonenal emanating from human skin by passive flux sampler, *2016 The Pittsburgh Conference on Analytical Chemistry and Applied Spectroscopy (PITTCON 2016)*, 2016 年 3 月 5 日~3 月 10 日、Gorgia World Congress Center, Atranta, Gorgia, USA.
2. Furukawa S, Takahashi M, Kimura K, Ikeda S, Sekine Y, Asai S, Umezawa K,

Miyachi H. Measurement of Ammonia Emanating from Human Skin as a Possible Biomarker for Physical/Mental Stress Responses, *2016 The Pittsburgh Conference on Analytical Chemistry and Applied Spectroscopy (PITTCON 2016)*, 2016 年 3 月 5 日~3 月 10 日、Gorgia World Congress Center, Atranta, Gorgia, USA.

3. Takahashi M, Furukawa S, Kimura K, Sekine Y, Asai S, Umezawa K, Miyachi H. Measurement of Acetic Acid Emanating from Human Skin as a Potential Biomarker for Quality of sleep, *2016 The Pittsburgh Conference on Analytical Chemistry and Applied Spectroscopy (PITTCON 2016)*, 2016 年 3 月 5 日~3 月 10 日、Gorgia World Congress Center, Atranta, Gorgia, USA.
4. 辻本陽子, 梅澤和夫, 浅井さとみ, 宮地勇人, 沓沢智子, 高度救命救急センター病棟における環境消毒方法の検討 超親水性樹脂コーティング銀含有抗菌シートの長期抗菌活性、第 79 回神奈川県感染症研究会、2016 年 3 月 12 日、ソリッドスクエア川崎、神奈川県川崎市
5. 古川翔太, 木村桂大, 高橋未奈美, 関根嘉香, 池田四郎, 梅澤和夫, 浅井さとみ, 宮地勇人, 渡辺節子, ストレス刺激がヒト皮膚から放散するアンモニアに及ぼす影響, 平成 27 年室内環境学会学術大会, 2015 年 12 月 3 日~12 月 4 日、沖縄コンベンションセンター、沖縄県宜野湾市
6. 高橋未奈美, 木村桂大, 古川翔太, 関根嘉香, 梅澤和夫, 浅井さとみ, 宮地勇人, 渡辺節子、ヒト皮膚から放散す

- る酢酸と睡眠の質の関係, 平成 27 年室内環境学会学術大会, 2015 年 12 月 3 日~12 月 4 日、沖縄コンベンションセンター、沖縄県宜野湾市
7. 木村桂大, 関根嘉香, 高橋未奈美, 古川翔太, 梅澤和夫, 浅井さとみ, 宮地勇人, ヒト皮膚から放散するジアセチル及び 2-ノネナールの拡散濃度の推定, 平成 27 年室内環境学会学術大会, 2015 年 12 月 3 日~12 月 4 日、沖縄コンベンションセンター、沖縄県宜野湾市
 8. 梅澤和夫, 浅井さとみ, 木村桂大, 関根嘉香, 宮地勇人, 揮発性物質解析による細菌同定法の開発, 第 62 回日本検査医学会総会, 2015 年 11 月 19 日~11 月 22 日、長良川国際会議場、岐阜県岐阜市
 9. 梅澤和夫, 山本義郎, 山田実俊, 浅井さとみ, 橋本昌宜, 宮地勇人, 猪口貞樹, 使用抗菌薬による緑膿菌薬剤耐性誘導のリスク評価, 第 43 回日本救急医学会総会, 2015 年 10 月 21 日~10 月 23 日、東京国際フォーラム、東京都千代田区
 10. Sekine Y. Wellness monitoring via human skin gases, *Techinnovation 2015*, 2015 年 9 月 22 日~9 月 23 日 Rosots World Convention Center, Sentosa, Singapore
 11. 木村桂大, 関根嘉香, 高橋未奈美, 古川翔太, ヒト皮膚から放散するジアセチル及び 2-ノネナールの受動的測定法の開発, 第 28 回におい・かおり環境学会, 2015 年 8 月 30 日~8 月 31 日、東京家政大学板橋キャンパス、東京都板橋区
 12. 関根嘉香, 木村桂大, 高橋未奈美, 古川翔太, 梅澤和夫, 浅井さとみ, 宮地勇人, 小座野貴弘、熱傷患者から放散される創部揮発性ガスの臨床応用に関する研究, 第 28 回におい・かおり環境学会, 2015 年 8 月 30 日~8 月 31 日、東京家政大学板橋キャンパス、東京都板橋区
 13. 梅澤和夫, 関根嘉香, 浅井さとみ, 宮地勇人, 重症熱傷患者に於ける創部揮発性ガス分析, 第 61 回日本検査医学会総会, 2014 年 11 月 22 日~11 月 25 日、福岡国際会議場、福岡県福岡市
 14. 梅澤和夫, 山本義郎, 浅井さとみ, 橋本昌宜, 宮地勇人, 猪口貞樹, アソシエーション分析による緑膿菌における薬剤耐性獲得の解析, 第 42 回日本救急医学会総会, 2014 年 10 月 28 日~10 月 30 日、福岡国際会議場、福岡県福岡市
 15. 梅澤和夫, 感染対策の観点から視たサンダーライトの有効性, 第 55 回日本組織細胞化学会総会, 2014 年 9 月 27 日~9 月 28 日、松本市中央公民館、長野県松本市
 16. 梅澤和夫, 浅井さとみ, 猪口貞樹, 宮地勇人, 携帯型パルス紫外線照射装置の抗菌作用の検討, 第 74 回神奈川県感染症研究会, 2013 年 9 月 21 日、横浜情報文化センター、神奈川県横浜市
 17. 梅澤和夫, 浅井さとみ, 橋本昌宜, 宮地勇人, 猪口貞樹, 多剤耐性緑膿菌発生予測因子の推定, 第 41 回日本救急医学会総会, 2013 年 10 月 21 日~10 月 23 日、東京国際フォーラム、東京都千代田区
- 〔図書〕(計 0 件)
- 〔産業財産権〕
- 出願状況(計 0 件)
- 取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等なし

6．研究組織

(1)研究代表者

梅澤 和夫 (UMEZAWA Kazuo)

東海大学・医学部・講師

研究者番号：30349344

(2)連携研究者

関根 嘉香 (SEKINE Yoshika)

東海大学・理学部・教授

研究者番号： 50328100

浅井 さとみ (ASAI Satomi)

東海大学・医学部・准教授

研究者番号： 60365989

宮地 勇人 (MIYACHI Hayato)

東海大学・医学部・教授

研究者番号： 20174196