

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 21 日現在

機関番号：31201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26463075

研究課題名(和文) 全身麻酔後の術後感染症予防に向けた口腔環境の解明

研究課題名(英文) Preoperative Oral Care Reduces The Bacterial Adhesion To Endotracheal Tubes

研究代表者

遠藤 千恵 (Endo, Chie)

岩手医科大学・歯学部・講師

研究者番号：10306037

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：術前の口腔ケア実施群(OC群)と非実施群(NOC群)患者から抜管した気管チューブに付着した総細菌数，レンサ球菌数を測定した。その結果，いずれのチューブにも1000 CFU以上の細菌が付着し，レンサ球菌が優勢であった。OC群ではNOC群よりチューブ付着の全細菌数，レンサ球菌数が有意に少なかった。しかし，唾液中の細菌数とチューブ付着の細菌数間には有意の相関性はなかった。In vitro実験ではミュータンスレンサ球菌が気管チューブに強い付着能を有していた。以上より，経口挿管した気管チューブには，特にミュータンスレンサ球菌が付着すること，またそれは口腔ケアにより抑制可能であることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：We assessed the number of total bacteria and streptococci on the extubated endotracheal tubes from the patients with/without preoperative oral cares (OC and NOC groups). Results indicated that bacteria of more than 1000 CFU per tube were detected in all samples, in which streptococci were predominant. The numbers of total bacteria and streptococci that adhered to the tubes in OC group were significantly lower than those in NOC group. However, there was no significant correlation in both OC and NOC groups between the numbers of bacteria on the endotracheal tube and those in the saliva samples, suggesting that the plaque streptococci could preferentially adhere to the tube. Further, the in vitro adhesion assay revealed that mutans streptococci have the highest adhesive ability to endotracheal tubes. Consequently, significant number of bacteria, especially mutans streptococci, can adhere to endotracheal tubes during operation, which may be controlled by preoperative oral cares.

研究分野：歯科麻酔学分野

キーワード：気管チューブ 口腔レンサ球菌 経口挿管

1. 研究開始当初の背景

近年、肺炎および気管支炎は高齢者の死因のひとつにあげられ、この疾患の発症を予防することが求められている。これまでの報告から、高齢者の呼吸器系の炎症は誤嚥による口腔細菌の呼吸器系への侵入が原因のひとつであると考えられおり、専門的機械清掃 (PMTc) をはじめとする口腔環境のコントロール (口腔ケア) が誤嚥性肺炎発症予防に重要であるとされている¹⁾。口腔には、齶蝕や歯周疾患の病原性細菌のほかに平素無害の口腔常在菌が多種類存在し、歯、舌、頬粘膜、咽頭、歯肉溝などの複雑な口腔器官内で固有の細菌叢を形成している。これらの口腔細菌は、条件さえ整えば感染性心内膜炎や誤嚥性肺炎の起原菌となることが明らかにされている²⁾。

全身麻酔の際の経口気管挿管操作では、まず喉頭鏡を挿入し舌を側面に圧排しながら気管チューブを口腔内に挿入させ気道へと進めていくが、その際、気管チューブは必ず口腔粘膜と接触する。気管チューブに接触するであろう舌表面や唾液中には、口腔レンサ球菌をはじめとする、口腔細菌が数多く存在している。このため、経口気管挿管操作により口腔細菌が気管チューブを介して、気道内に押し込まれることが考えられる。事実、2011年の Carins S. らの報告³⁾では挿管された気管チューブには口腔細菌をはじめとして多数の細菌が付着していることが示唆されている。これらのことから、術前の口腔ケアにより口腔細菌数をコントロールすることが術後感染症 (特に術後性肺炎) の発症予防に非常に重要であると考えられるにも関わらず、口腔ケアによる気管チューブへの付着細菌数および菌種の詳細については明らかにはされていない。われわれのグループはこれまでに、口腔ケアによる気管チューブへの付着細菌数について検討を行い、口腔ケア実施により気管チューブへの付着細菌数

が抑制される可能性を明らかにしてきた。

2. 研究の目的

本研究では、術後性肺炎の発症因子の解明と予防を目的として、抜管後の気管チューブに付着する細菌および主要口腔細菌である口腔レンサ球菌の菌数について詳細に検討するとともに、口腔ケアによる抑制効果について検討した。また、唾液中の総細菌数、レンサ球菌数との比較から、気管チューブに付着したレンサ球菌種について検討を行った。さらに、7種類の口腔レンサ球菌実験室株を用いた *in vitro* 付着実験により、気管チューブに強い付着能を有する口腔レンサ球菌種について検討した。

3. 研究の方法

(1)対象: 岩手医科大学附属病院を受診し、経口挿管の施行を前提とした全身麻酔下手術を実施する患者で、岩手医科大学歯学部倫理委員会の承認のもと (承認番号: D-01190)、本研究に同意を得られた成人 53 名 (平均年齢 59.1 ± 2.10 、男性 23 名、女性 30 名) とした。対象を無作為に口腔ケア非実施群 (NOC 群: 男性 17 名、女性 16 名) と口腔ケア実施群 (OC 群: 男性 6 名、女性 14 名) に分類し、両群とも手術 1 週間前に口腔内診査 {問診・残存歯数・口腔内清掃状態 (PCR)} を行った (表 1)。口腔内診査後、OC 群では、歯科衛生士による口腔ケア (PMTc) を施行した。

(2)サンプル採取: 術前唾液および手術直後に抜管した気管チューブより細菌サンプルを採取した。すなわち、術前唾液は手術当日の起床直後の安静時唾液を 1.0 ml 採取し、滅菌生理食塩水を加えた後、5000rpm、5 分間、4 の条件で遠心分離を行った。さらに 2 度遠心洗浄を行い、得られた遠心沈渣を唾液サンプルとした。気管チューブは手術直後に抜管したものを滅菌生理食塩水で洗浄後、滅菌生理食塩水 10ml に浸漬した。Vortex mixer

を用いて気管チューブに付着した細菌を浮遊させた後、その懸濁液を 3000rpm、15 分間、4 の条件で遠心分離した。さらに、2 度遠心洗浄を行い、得られた遠心沈渣を気管チューブサンプルとした。

(3)細菌数の計測：唾液および気管チューブの総細菌数の計測は、5%ヒツジ血液寒天培地を用い、また、口腔レンサ球菌数の計測は Mitis-salivarius(MS)寒天培を用いて行った。培養は嫌氣的条件下(90% N₂、5% H₂、5% CO₂)で 37 °C、48 時間行い、形成されたコロニー数を測定した。

(4)7 菌種の口腔レンサ球菌の気管チューブへの付着能の検討：気管チューブへの口腔レンサ球菌の付着能の検討は既報に従い行った。すなわち、7 菌種の口腔レンサ球菌実験室株 (*Streptococcus mutans* ATCC 25175 株、*S. sobrinus* ATCC 27351 株、*S. anginosus* NCTC 10713 株、*S. salivarius* JCM 5705 株、*S. sanguinis* ATCC 10556 株、*S. gordonii* ATCC 10558 株および *S. oralis* ATCC 10557 株) を Tryptic Soy Broth を用いて嫌氣的条件下(90% N₂、5% H₂、5% CO₂)で 37 °C、48 時間培養した。培養終了後、8000rpm、5 分間、4 の条件で遠心・洗浄を二度繰り返し、滅菌生理食塩水に再懸濁 (OD₆₀₀=0.12) した。細菌懸濁液を 4 °C、2 時間、RAE カフ付気管内チューブと培養した。培養終了後、抜管チューブの場合と同様、気管チューブを洗浄し、滅菌生理食塩水に浸漬、攪拌後、2 度遠心洗浄を行い、実験的付着細菌サンプルを得た。細菌サンプルを滅菌生理食塩水に再懸濁し、Tryptic Soy 寒天培地に播種し、嫌氣的条件下で 37 °C、48 時間培養し形成されたコロニー数を計測した。陽性対照として気管チューブに強い付着能を有する *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984 株を用いた。

統計解析：被験者の年齢および PCR 値、サンプルの菌数、付着率について unpaired t-test を用いて検討した。すべての結果において有

意水準は 0.05 未満とした。

4 . 研究成果

(1)術前口腔ケア実施群と口腔ケア非実施群

本研究では、経口挿管により全身麻酔下手術を実施する患者 53 名のうち、無作為に術前に口腔ケアを行なった OC 群と行わなかった NOC 群に群分けしたが、両群間で、平均年齢、平均残存歯数、平均 PCR に有意差は見られなかった(表 1)。

表1.本研究に供した被験者の平均年齢、平均残存歯数、平均PCR値

	平均年齢 (歳)	平均残存歯数 (本)	平均PCR (%)
被験者全体 (n=53)	59.0 ± 15.5	20.7 ± 7.0	50.9 ± 24.2
口腔ケア非実施群 (NOC群, n=33)	61.8 ± 15.6	21.3 ± 7.0	50.6 ± 25.2
口腔ケア実施群 (OC群, n=20)	55.0 ± 14.7	19.7 ± 7.1	51.3 ± 23.2

平均値±標準偏差

(2)抜管後の気管チューブに付着する総細菌数および口腔レンサ球菌数

OC 群および NOC 群の抜管した気管チューブに付着した総細菌および口腔レンサ球菌数を測定した。その結果、菌数にばらつきはあるものの、抜管した気管チューブ 53 サンプルすべてにおいて 1.0 x 10³ CFU/sample 以上の細菌の付着を認めた(図 1)。

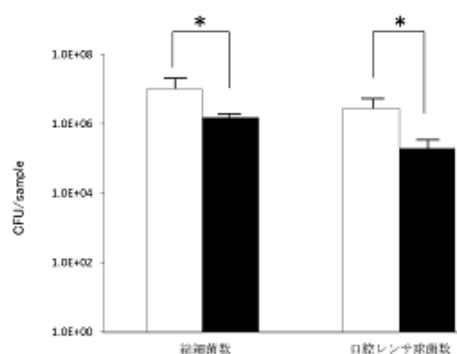


図1. 口腔ケア実施群および非実施群における気管チューブへの付着細菌数

両群間の全細菌数を比較すると、NOC 群で $9.6 \times 10^6 \pm 2.3 \times 10^6$ CFU/sample (平均値 ± 標準誤差) の細菌が検出されたのに対し、OC 群での付着菌数は $1.5 \times 10^6 \pm 5.0 \times 10^5$ CFU/sample と有意に低いことが明らかとなった ($p < 0.05$)(図 1)。また、口腔レンサ球菌数についても、NOC 群で $2.8 \times 10^6 \pm 1.4$

$\times 10^6$ CFU/sample、OC 群で $2.0 \times 10^5 \pm 5.6 \times 10^4$ CFU/sample の細菌が検出され、NOC 群と比較して OC 群での付着口腔レンサ球菌数も有意に低いことが明らかとなった ($p < 0.05$) (図 1)。

(3) 術前口腔ケアの実施と唾液細菌数の関連

全身麻酔の際の経口気管挿管操作では、気管チューブは必ず口腔粘膜や唾液と接触することから、次に術前口腔ケアの実施と唾液中の細菌数の関連性について検討した。手術当日の起床直後の安静時唾液 (1.0 ml) を唾液サンプルとして採取し、唾液中に含まれる総細菌および口腔レンサ球菌数を比較検討した結果、OC 群と NOC 群の間に総細菌数および口腔レンサ球菌数の有意な差は認められなかった (図 2)。

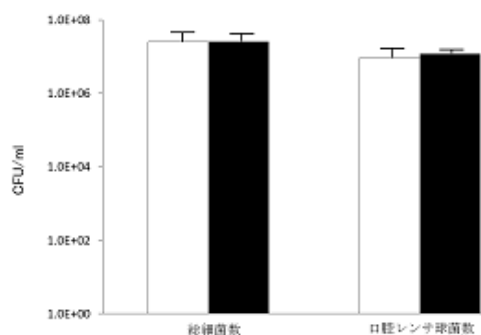


図2. 口腔ケア実施群および非実施群における唾液中の細菌数

(4) 気管チューブ付着細菌数と唾液細菌数の関連

次に、被験者個々のレベルでの、抜管後の気管チューブに付着する細菌数と唾液細菌数の関連性を検討した。その結果、NOC 群、OC 群のいずれの群においても、気管チューブに付着する総細菌数と唾液中の総細菌数間、また、気管チューブに付着する口腔レンサ球菌数と唾液口腔レンサ球菌数間に有意の相関は認められなかった (図 3)。

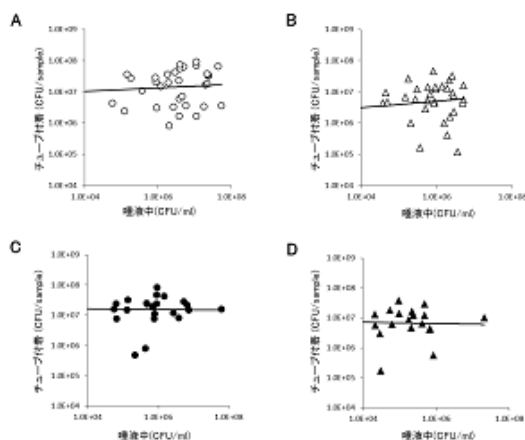


図3. 気管チューブへの付着細菌数と唾液中の細菌数との関連性

(5) 7 菌種の口腔レンサ球菌の気管チューブへの付着能の検討

術前の口腔ケアにより、気管チューブに付着した細菌数・口腔レンサ球菌数の抑制が認められたことから、*in vitro*において7種類の口腔レンサ球菌実験室株を用いて気管チューブへの付着能について検討した。その結果、mutans streptococci である *S. mutans* および *S. sobrinus* はいずれも、他の5種類の口腔レンサ球菌種と比較して気管チューブへの有意に高い付着能を有することが明らかとなった ($p < 0.05$) (表 2)。

表2. 気管チューブへの口腔レンサ球菌の付着能

	付着率 ^a (%)
<i>S. mutans</i>	0.57 ± 0.07
<i>S. sobrinus</i>	0.97 ± 0.37
<i>S. anginosus</i>	0.10 ± 0.02^b
<i>S. salivarius</i>	0.14 ± 0.03^b
<i>S. sanguinis</i>	0.07 ± 0.01^b
<i>S. gordonii</i>	0.08 ± 0.02^b
<i>S. oralis</i>	0.11 ± 0.04^b
<i>Staph. epidermidis</i>	1.35 ± 0.47

^a: 平均値 ± 標準誤差

^b: *S. mutans*, *S. sobrinus*, *Staphy. epidermidis* との間に有意差あり ($P < 0.05$)

考 察

PMTc をはじめとする口腔ケアによるデンタルプラークの除去は、齲蝕や歯周炎の発症予防、口腔の健康維持に重要な役割を担っていることはこれまでの報告から明らかにされている^{4, 5)}。さらに、含嗽、口腔清掃などの口腔ケアが口腔細菌により惹起される誤

嚥性肺炎や人工呼吸器関連肺炎の予防に重要であることも報告されている⁶⁾。しかし、術前の口腔ケアによる術後性肺炎の発症予防効果、特に気管チューブへの付着細菌数抑制効果および気管チューブへの付着能が強い菌種の詳細については明らかにはされていなかった。そこで本研究では、術後性肺炎の発症機序の解明と予防を目的として、術前口腔ケア(PMTC)と、抜管後の気管チューブに付着する総細菌数および口腔レンサ球菌数の関連性について検討した。

その結果、今回調べた抜管後の気管チューブサンプルのすべてから 1.0×10^3 CFU/sample 以上の細菌が検出され、その主要構成細菌が口腔レンサ球菌であることが明らかとなった(図1)。この成績は Cairns S. らの報告³⁾を支持するもので、通常の全身麻酔の際の経口気管挿管操作で挿入した気管チューブには有意の細菌、特に口腔レンサ球菌が付着していることが強く示唆された。

OC群およびNOC群の抜管した気管チューブに付着した総細菌数および口腔レンサ球菌数を比較検討した結果、NOC群と比較してOC群で気管チューブに付着した細菌/口腔レンサ球菌数が有意に低かったことから、術前口腔ケア(PMTC)が、細菌/口腔レンサ球菌の気管チューブへの付着に対し抑制的に働いていることが強く示唆された(図1)。

全身麻酔の際の経口気管挿管操作では、気管チューブは必ず口腔粘膜や唾液と接触することから、次にOC群およびNOC群の唾液中の細菌/口腔レンサ球菌数について検討した(図2)。その結果、OC群とNOC群の間に総細菌数および口腔レンサ球菌数の有意な差は認められなかったことから、今回行った術前口腔ケア(PMTC)は唾液細菌数にはほとんど影響しないことが強く示唆された。これは、口腔清掃が唾液中の *S. mutans* やラクトバシラス属の菌数を抑制するとの報告⁷⁾とは異なるが、今回のPMTCが(本来の目的で

ある)プラークの除去に効率よく作用し、唾液細菌叢にはほとんど影響しなかったためかも知れない。実際、今回の研究では、被験者個々のレベルでの、抜管後の気管チューブに付着する細菌/口腔レンサ球菌数と唾液細菌数の関連性を検討した結果、NOC群、OC群のいずれの群においても、気管チューブに付着する総細菌/口腔レンサ球菌数と唾液中の総細菌数間に有意の関連性は認められないことが明らかとなった(図3)。

そこで、気管チューブに対する口腔レンサ球菌の付着能を *in vitro* 実験系で検討した結果、プラークを主たるニッチ(生息部位)とする *mutans streptococci* (*S. mutans* および *S. sobrinus*) が、他の5種類の口腔レンサ球菌種と比較して気管チューブへの有意に高い付着能を有することが明らかとなった($p < 0.05$)(表2)。また、この付着率は気管内チューブに強い付着能を有する *Staph. epidermidis*⁸⁾に匹敵することが明らかとなった。

これらの成績を勘案すると、術前口腔ケア(PMTC)による気管チューブに付着した細菌数の抑制効果は、PMTCによりデンタルプラークをニッチとする *mutans streptococci* の菌数を減少させたことによるものである可能性が示唆される。しかし本研究では、*S. mutans* と *S. sobrinus* の個々の動態を検討していない。今後、気管チューブおよび唾液サンプルでの *S. mutans* と *S. sobrinus* の量的検討、さらに気管チューブへの強い付着能を有し、口腔にも存在することが明らかにされているブドウ球菌⁹⁾の関与についても検討を加えることで、術後感染予防としての術前口腔ケアの重要性をより明確にする予定である。

<引用文献>

井手昇太郎, 今村圭文, 河野 茂: 肺炎, 日本胸部臨床, 73, 925-937, 2014.

門田淳一：【肺炎の現状と管理】(序)超高齢化社会における肺炎診療マネジメント, 化学療法の領域, 32, 2130-2132, 2016.

Cairns S, Thomas G J, Hooper J S, Wise P M, Frost J P, Wilson J M, Lewis A O M, Williams W D: Molecular Analysis of Microbial Communities in Endotracheal Tube Biofilms, PLoS ONE, 6, 1-8, 2011.

Barnes CM: Dental hygiene intervention to prevent nosocomial pneumonias, Journal Evidence Based Dental Practice, 14, 103-114, 2014.

Ishikawa A, Yoneyama T, Hirota K, Miyake Y, Miyatake K: Professional oral health care reduces the number of oropharyngeal bacteria, J Dent Res, 87, 594-598, 2008.

Ogata J, Minami K, Miyamoto H, Horishita T, Ogawa M, Sata T, Taniguchi H: Gargling with providone-iodine reduces the transport of bacteria during oral intubation, Can J Anaesth, 51, 932-936, 2004.

Relvas M, Coelho C, Velazco Henriques C, Ramos E: Cariogenic bacteria and dental health status in adolescents ;the role of oral health behaviours: Eur J Paediatr Dent, 15, 281-287, 2014.

Vandecandelaere, Matthijs N, Van Nieuwerburgh F, Deforce D, Vosters P, De Bus L, Nelis HJ, Depuydt P, Coenye T: Assessment of microbial diversity in biofilms recovered from endotracheal tubes using culture dependent and independent approaches, PLoS One, 7, e38401, 2012.

Ohara-Nemoto Y, Haraga H, Kimura S, Nemoto TK: Occurrence of staphylococci in the oral cavities of healthy adults and nasal oral trafficking of the bacteria, J Med Microbiol., 57, 95-99, 2008.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 3 件)

遠藤千恵, 下山 佑, 木村重信, 四戸 豊, 坂本 望, 佐藤雅仁, 佐々木 実, 城 茂治, 佐藤健一: 経口挿管における気管チューブへの口腔細菌の付着と口腔ケアによる抑制効果. 岩医大歯誌, 42 巻, 2017 (印刷中)

Nemoto, T.K., Ohara-Nemoto, Y., Bezerra, G. A., Shimoyama, Y. and Kimura, S.: A *Porphyromonas gingivalis* periplasmic novel exopeptidase, acylpeptidyl oligopeptidase, releases

N-acylated di- and tri-peptides from oligopeptides. J. Biol. Chem., 291, 5913-5925, 2016.

Matsui, M., Chosa, N., Shimoyama, Y., Minami, K., Kimura, S. and Kishi, M.: Effects of tongue cleaning on bacterial flora in tongue coating and dental plaque: a crossover study. BMC Oral Health, 14:4. doi:

10.1186/1472-6831-14-4, 2014.

〔学会発表〕(計 2 件)

Preoperative oral care reduces the bacterial adhesion to endotracheal tubes

Chie Endo, Yu Shimoyama, Kenichi Satoh, Masahito Satoh, Shigenobu Kimura, Shigeharu Joh International federation of Dental Anesthesiology Societies (Berlin, Germany) 2015 Preoperative oral care reduces the bacterial adhesion to endotracheal tubes

Chie Endo, Yu Shimoyama, Yutaka Shinohe, Kenichi Satoh, Masahito Satoh, Shigenobu Kimura, Shigeharu Joh 92th International Association for Dental Research (Cape town, South Africa) 2014

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

遠藤 千恵 (ENDO, Chie)

岩手医科大学・歯学部・講師

研究者番号: 10306037

(2) 研究分担者

木村 重信 (KIMURA, Shigenobu)

関西女子短期大学・その他部局等・教授

研究者番号: 10177917

(3) 連携研究者

城 茂治 (JOH Shigeharu)

岩手医科大学・歯学部・教授

研究者番号: 20154411

下山 佑 (SHIMOYAMA Yu)

岩手医科大学・歯学部・講師

研究者番号: 90453331

(4) 研究協力者