様式(7)

論文内容要旨

報告番号	乙栄第 95 号	氏名	山岡 一平		
題目	Detecting Enteral Nutrition Residues and Microorganism Proliferation in Tubes via Real - Time Imaging (リアルタイムイメージングによる栄養チューブ内における流動食残渣と微生物出)				

【緒言】経管栄養で長期管理される場合、投与される流動食のチューブ付着性が低いことは感染予防の面からも望ましく、この要件を満たす製品の評価は高い。チューブ洗浄後の流動食残存は見た目により判断され、目に見えないごく僅かな付着や通水により希釈された流動食はもはや特定できない。我々は、蛍光及び生物発光イメージングでこの僅かな流動食の残存とそれに起因する細菌増殖をそれぞれ瞬時に検出できる評価技術を確立した。

【方法】(1)蛍光試薬が混和され、粘度や増粘剤の種類を違えた流動食をそれぞれチューブ内に充填した後に一度通水し、チューブ内の蛍光分布を Imaging システム(IVIS®)により観察しその輝度を定量し流動食残存量を求めた。この通水後の流動食残存量が異なるチューブ内にルシフェラーゼ遺伝子が組み込まれた発光緑膿菌(Pseudomonas aeruginosa Xen 5 株)を播種し、緑膿菌から発せられる生物発光を経時的に観察・定量化した。24 時間の培養後、チューブ内を水で洗浄し、バイオフィルムを形成している緑膿菌を生物発光イメージングにより観察した。(2)流動食が自家蛍光を発することを利用し、蛍光試薬が混和されていないそれぞれの流動食をチューブ内に充填後、チューブ内の自家蛍光強度がバックググラウンドレベルにまで到達するまで通水と蛍光観察を繰り返し、それぞれの流動食について残渣なく洗浄するために必要な通水回数を計測した。

【結果】(1) 蛍光試薬を用いることで感度よく流動食残存がチューブ内に散じた蛍光として検出された。このチューブ内の流動食残渣は流動食の粘度や特定の増粘剤によって増加した。チューブ内の流動食残存が目視で判別できない僅かな量であっても緑膿菌はチューブ内で増殖し、その増殖は残液流動食量に応じて速やかとなり、バイオフィルム形成菌も増加することが示された。(2)流動食のもつ自家蛍光によってもチューブ内の流動食残渣の検出は可能であった。ペースト状に粘度を上昇させた流動食は、その粘度上昇に応じて繰り返し洗浄が必要となり、複数回の洗浄によっても目視で特定できない流動食残存が蛍光として検出された。一方、ゲル状の流動食では洗浄後の流動食残存は、わずか1回の洗浄で検出できないレベルにまで低減した。

【結論】蛍光イメージングは目視で判別できない僅かな流動食のチューブ残存も明らかにできる。この 手法で検出される残存の微量な違いは細菌増殖やバイオフィルム形成をも左右し得る。チューブ内の流 動食と微生物のリアルタイムイメージングは新たな技術として流動食が起因する微生物感染対策に資す ることが期待できる。

報告番号	乙栄第	95	号	氏名	山岡 一平	
	主査宮	本 賢一				
審査委員	 副査 竹 	谷豊	9)			
	 副査 阪	上 浩				

題目 Detecting Enteral Nutrition Residues and Microorganism Proliferation in Feeding Tubes via Real-Time Imaging

(リアルタイムイメージングによる栄養チューブ内における流動食残渣と微生物増殖の検出)

著者 Ippei Yamaoka, Tomohiro Kagawa, Kazuya Mizugai, and Goro Ebisu

平成29年4月発行 Nutrition in Clinical Practice雑誌 第32巻第2号282~287ページに発表済

要旨

経管栄養で長期管理される場合、投与される流動食のチューブ付着性が低いことは感染予防の面からも望ましい。チューブ洗浄後の流動食残存は見た目により判断され、目に見えないごく僅かな付着や通水により希釈された流動食はもはや特定できない。本研究は、蛍光及び生物発光イメージングでこの僅かな流動食の残存とそれに起因する細菌増殖をそれぞれ瞬時に検出できる評価技術を確立したものである。

まず、蛍光試薬が混和され、粘度や増粘剤の種類を違えた流動食をそれぞれチューブ内に充填した後に一度通水し、チューブ内の蛍光分布をイメージングシステム(IVIS®)により観察しその輝度を定量し流動食残存量を求めた。この通水後の流動食残存量が異なるチューブ内にルシフェラーゼ遺伝子が組み込まれた発光緑膿菌(Pseudomonas aeruginosa Xen 5 株)を播種し、緑膿菌から発せられる生物発光を経時的に観察・定量化した。24 時間の培養後、チューブ内を水で洗浄し、バイオフィルムを形成している緑膿菌を生物発光イメージングにより観察した。次に、流動食が自家蛍光を発することを利用し、蛍光試薬が混和されていないそれぞれの流動食をチューブ内に充填後、チューブ内の自家蛍光強度がバックググラウンドレベルにまで到達するまで通水と蛍光観察を繰り返し、それぞれの流動食について残渣なく洗浄するために必要な通水回数を計測した。

その結果、蛍光試薬を用いることで感度よく流動食残存がチューブ内に散じた蛍光として検出できた。このチューブ内の流動食残渣は流動食の粘度や特定の増粘剤によって増加した。チューブ内の流動食残存が目視で判別できない僅かな量であっても緑膿菌はチューブ内で増殖し、その増殖は残液流動食量に応じて速やかとなり、バイオフィルム形成菌も増加することが示された。また、流動食のもつ自家蛍光によってもチューブ内の流動食残渣の検出は可能であった。ペースト状に粘度を上昇させた流動食は、その粘度上昇に応じて繰り返し洗浄が必要となり、複数回の洗浄によっても目視で特定できない流動食残存が蛍光として検出された。一方、ゲル状の流動食では洗浄後の流動食残存は、わずか1回の洗浄で検出できないレベルにまで低減した。

以上の知見より、蛍光イメージングは目視で判別できない僅かな流動食のチューブ残存も明らかにできた。この手法で検出される流動食残存の微量な違いは細菌増殖やバイオフィルム形成をも左右し得ることがわかった。チューブ内の残存流動食と微生物のリアルタイムイメージングは新たな技術として流動食が起因する微生物感染対策に資することが期待できると考えた。

本研究は、経腸栄養法の副作用である感染の原因となる栄養チューブ内における流動食残渣と微生物増殖を簡易かつリアルタイムで計測する方法を確立したものであり、博士(栄養学)に値すると判断した。