

平成 12 年度厚生科学研究費補助金

政策科学推進研究事業

地域歯科医療における感染症に対する
危機管理システムの検討

平成 13 年 3 月

主任研究者 花田 信弘

国立感染症研究所口腔科学部

目 次

厚生科学研究費補助金総括研究報告書	1
-------------------	---

主任研究者 花田信弘 (国立感染症研究所口腔科学部長)

厚生科学研究費補助金分担研究報告書	5
-------------------	---

分担研究者 花田信弘 (国立感染症研究所口腔科学部長)

厚生科学研究費補助金分担研究報告書	13
-------------------	----

分担研究者 田沢光正 (岩手県保健福祉部課長補佐)

分担研究者 佐藤 保 (岩手県歯科医師会常務理事)

分担研究者 及川慶一 (岩手県医師会常任理事)

付録 資料集

表 1: 今回調査を行った日和見病原菌の種類	15
表 A-1-1: 歯垢、唾液、咽頭から検出された細菌とその頻度	16
表 A-1-2: 歯垢、唾液、咽頭から検出された細菌とその頻度	17
表 A-2: 歯垢、唾液、咽頭から検出された細菌種の相関	18
表 B-1: ハイリスク児童から検出された細菌種とその頻度	19
表 B-2: 就学前児童からのカテゴリー別菌種検出状況	20
表 C-1: フッ素洗口実施学童から検出された細菌種とその頻度	21
表 C-2: フッ素洗口実施学童からのカテゴリー別菌種検出状況	22
表 D-1: 各企業における調査対象の口腔内の状況	23
表 D-2: 企業 A における日和見細菌の検出状況	24
表 D-3: 企業 B における日和見細菌の検出状況	25
表 D-4: 成人からのカテゴリー別菌種検出状況	26
表 E-1: 調査対象の年齢、口腔内の状態、口腔ケアの状態	27
表 E-2: 今回検出された日和見病原菌の種類	28
表 E-3: 調査対象唾液 1ml 中の乳酸桿菌、総レンサ球菌、ミュータンスレンサ球菌の量	29
図 F-1: 3 DS によるミュータンスレンサ球菌の変化	30
図 F-2: 3 DS による総レンサ球菌中のミュータンスレンサ球菌の割合変化	31
図 F-3: 3 DS によるミュータンスレンサ球菌の変化の個人別評価	32
図 F-4: 3 DS による総レンサ球菌の変化	33
図 F-5: 3 DS による乳酸桿菌の変化	34
研究論文: New Dental Drug Delivery System for Removing Mutans Streptococci from the Oral Cavity: Effect on Oral Microbial Flora	35

厚生科学研究費補助金総括研究報告書

主任研究者 花田信弘(国立感染症研究所口腔科学部長)

厚生科学研究費補助金（政策科学推進 研究事業）
総括研究報告書

地域歯科医療における感染症に対する危機管理システムの検討

主任研究者 花田 信弘 国立感染症研究所・口腔科学部・部長

研究要旨：国立感染症研究所に協力して、各年齢層の人々の歯や義歯など口腔にはどのような病原体が定着しているのかを調べた。調査対象は、研究Aでは特別養護老人ホーム入居者329名。研究Bでは、幼児（5-6歳）657名、研究Cでは、8-12歳の児童256名、研究Dでは、成人（平均年齢38.1歳の集団121名および39.8歳の集団144名）、研究Eでは歯科衛生士（平均年齢30.3歳）15名およびヘルスケアワーカー（平均年齢43.6歳）14名である。検査材料は、歯垢（表層）、咽頭ぬぐい液である。シードスワブ1号による擦過にて材料採取をおこない、培地にて培養して検出した。

研究A-Eの結果を分析すると口腔からは幼児を含む各年齢層で起炎性の高い病原体が多数検出された。青少年の健全育成の観点で看過できない問題である。研究F（デンタル・ドラッグ・デリバリー・システム；3DS）により日和見病原体の除菌方法が報告されたので、検査システム、除菌システムを効果的に運用することで口腔に由来する感染症を未然に予防できる。今後は医師会、歯科医師会、保健所が連携して、これらの日和見病原菌を除去する社会システムを確立する必要がある。

分担研究者氏名

田沢光正（岩手県庁課長補佐）

佐藤保（岩手県歯科医師会常務理事）

及川慶一（岩手県医師会常務理事）

A. 研究目的

「感染症の予防および感染症の患者に対する医療に関する法律案」が施行され、新しい危機管理体制が整備されている。岩手県でもその対応が協議されている。歯科の分野においても口腔感染症に対する対策が必要であるが、岩手県では十分な検討がなされていない。在宅訪問診療や老人介護施設における歯科診療に際してどのような口腔の病原体に遭遇しているのかを具体的に調査し、その対策を立案する必要がある。

B. 研究方法

対象：研究Aでは特別養護老人ホーム入居者329名。研究Bでは、幼児（5-6歳）657名、研究Cでは、8-12歳の児童256名、研究Dでは、成人（平均年齢38.1歳の集団121名および39.8歳の集団144名）、研究Eでは歯科衛生士（平均年齢30.3歳）15名およびヘルスケアワーカー（平均年齢43.6歳）14名である。

検査材料：歯垢（表層）、咽頭ぬぐい液。

使用容器及び採取方法：専用採取器具（シードスワブ1号；BML, 東京）にて歯面ならびに咽頭後壁

を擦過し採取。検体を輸送後培養し、呼吸器系感染症の関連微生物を中心に検出した。

C. 研究結果

採取検体を培地で培養した結果、各年齢層の歯垢から、呼吸器系感染症の微生物が多数検出された。主な検出菌は以下の通りである。 *Candida albicans* ; *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas* 属、 *Xanthomonas maltophilia*, *Staphylococcus aureus* (MSSA); *Staphylococcus aureus* (MRSA) ; *Streptococcus pneumoniae*(肺炎球菌) ; *Pseudomonas aeruginosa*(緑膿菌); *Branhamera catarrhalis* ; *Klebsiella ozaenae*; *Klebsiella pneumonia* (肺炎桿菌) ; *Haemophilus influenzae* (インフルエンザ菌); *Haemophilus parainfluenzae* (パラインフルエンザ菌)。

以上のように平成12年度は、各年齢層の人々の歯や義歯にはどのような病原体が定着しているのかを調べた。その結果、幼児(5-6歳)を含む各年齢層の口腔からは呼吸器系感染症などに関連する起炎性の高い病原体が多数検出されることがわかった。

D. 考察

Pseudomonas aeruginosa (緑膿菌) はバイオフィルム形成菌としてよく知られているが、歯面でも増殖していることが初めてわかった。また、黄色ブドウ球菌、インフルエンザ菌や緑膿菌などの菌は、インフルエンザウイルスの活性化や老人の誤嚥性肺炎との関連が指摘されているので、口腔ケアによる、的確な除菌対策が必要であることが示唆された。

歯科衛生士の集団からは、日和見病原菌が検出されないことから、口腔ケアによる除菌が効果的であることが窺える。

「感染症の予防および感染症の患者に対する医療に関する法律案」が施行され、新しい危機管理体制が整備されている。歯科の分野においても感染症に対する対策が必要であるが、十分な検討がなされていない。在宅訪問診療や老人介護施設における歯科診療に際してどのような病原体に遭遇し

ているのかを具体的に調査し、その対策を立案する必要があった。また、このデータは介護老人の口腔ケアプラン作成の資料にも使用できる。研究A-Eの結果を分析すると口腔からは幼児を含む各年齢層で起炎性の高い病原体が多数検出された。

研究F(デンタル・ドラッグ・デリバリー・システム; 3 DS)により日和見病原体の除菌方法が報告されたので、検査システム、除菌システムを効果的に運用することで口腔に由来する感染症を未然に予防できる。更にデータを補強すると共に、医師会と歯科医師会および保健所の間で、感染症に対する危機管理のための一次医療、二次医療および三次医療圏の確立について更に検討していく必要があると思われる。

E. 結論

研究A-Eの結果を分析すると口腔からは幼児を含む各年齢層で起炎性の高い病原体が多数検出された。研究F(デンタル・ドラッグ・デリバリー・システム; 3 DS)により日和見病原体の除菌方法が報告されたので、検査システム、除菌システムを効果的に運用することで口腔に由来する感染症を未然に予防できる。今後は医師会、歯科医師会、保健所が連携して、これらの日和見病原菌を除去する社会システムを確立する必要があることがわかった。

F. 研究発表

1. Takeuchi H, Senpuku H, Matin K, Kaneko N, Yusa N, Yoshikawa E, Ida H, Imai S, Nisizawa T, Abei Y, Kono Y, Ikemi T, Toyoshima Y, Fukushima K, Hanada N. New dental drug delivery system for removing mutans streptococci from the oral cavity: effect on oral microbial flora. Jpn J Infect Dis 53:211-212, 2000.
2. Suzuki, T., Tagami, J., Hanada, N. (1999): Role of F_1F_0 -ATPase in the growth of *Streptococcus mutans* GS5. J Appl Microbiol 88:555-562, 2000.

3. 花田信弘、鈴木剛 : *Streptococcus mutans* の増殖における膜貫通型 F_1F_0 -ATPase の役割、Bacterial Adherence研究、13:12-16, 2000.
4. 泉福英信、花田信弘, う蝕の原因と対策、感染・炎症・免疫 30 : 2-10, 2000.
5. 花田信弘, むし歯ワクチン、BIO Clinica 15: 48-52, 2000.

G. 知的所有権の取得
該当なし

厚生科学研究費補助金分担研究報告書

分担研究者 花田信弘(国立感染症研究所口腔科学部長)

厚生科学研究費補助金（政策科学推進 研究事業）
分担研究報告書

地域歯科医療における感染症に対する危機管理システムの検討

分担研究者 花田 信弘 国立感染症研究所・口腔科学部・部長

研究要旨：口腔内には約350種の細菌が生息するといわれており、その中には日和見病原菌も存在している。日和見病原菌の検出方法の確立として歯垢、咽頭、舌の細菌に比較検討を行った結果、日和見病原菌の検出には歯垢を検体とすることが最適であることが明らかとなった。日和見病原菌の罹患率では、就学前児童で39.8%、学童で23.4%、就業年齢の成人(平均年齢39歳)では14%、老人では34.4%であった。また、MRSAは老人からのみ検出され、老人は医療機関にかかる機会が多いことから口腔内での日和見病原菌の感染源として院内感染の可能性が示唆された。さらに、口腔内からの病原性微生物の除去方法としてDental Drug Delivery System(3DS)を開発し、ミュータンスレンサ球菌の除菌をモデルとして臨床研究を行った。その結果3DSによってミュータンスレンサ球菌が効率よく除菌され、さらに副作用の発現を極力抑えた臨床術式として非常に有用な方法であることが示唆され、口腔内から病原性微生物除去方法として臨床応用可能な方法であることが明らかとなった。

A. 研究目的

「感染症の予防および感染症患者に対する医療に関する法律案」が施行され、新しい危機管理体制が整備されつつある。歯科の分野においても、口腔内には生体から検出される細菌約700種のうち50%に相当する350種の細菌が検出されるといわれている。これら細菌の中には、気道に対する起炎菌を始め様々な病原菌が検出される可能性がある。しかし、現段階においては、感染症患者に対する対応どころか、どのような細菌が検出されるか、またその罹患率に関しても全く明らかにされていない状態である。またその検査方法に対してもその普及も含めて課題も多く残されている。そこで今回の研究では、日和見病原菌の検査方法の確立、各細菌の罹患率の調査、さらにその臨床上の対応策を目的として検討を行った。

一方、多くの病原性微生物は口腔を通じて生体内に進入する。急性の感染症もその病原菌を口腔内から除菌することによって防衛できれば感染症の蔓延を

未然に防げる可能性がある。特に白血病を代表とする無菌的な処置を必要とする疾患では、無菌処置に対し口腔も例外ではない。また、気管内挿管や胃カメラ、マーゲンチューブ等の医療行為も口腔を通じて行われる処置である。このような処置に対しても口腔内に病原性微生物が存在すれば、生体内へ病原性微生物を拡散させてしまう危険性がある。以上のような観点から、う蝕原性のあるミュータンスレンサ球菌の除菌を口腔内から病原性微生物除菌のモデルとしてその臨床術式、臨床行為に対する評価方式、臨床効果の判定を含めたシステム構築を試みている。

本研究課題では、口腔内病原菌の除菌方法として、Dental Drug Delivery System(3DS)を開発した。今回はクロールヘキシジン抗菌性の薬剤として用いたが、クロールヘキシジンはグラム陽性菌、陰性菌の細胞壁を破壊し、細菌のタンパクを変性する薬剤であり主として手指、器具の消毒薬および手術野皮膚

の消毒薬として用いられてきた。本邦では、粘膜に対する使用制限があるものの、ミュータンスレンサ球菌に対する殺菌作用が強く、う蝕予防の強力なツールとなりうる。クロールヘキシジンの適用方法として、洗口剤への添加、歯磨剤への含有、デンタルフロスに付けて歯間部を清掃する方法、パーニッシュ等様々な方法が試みられその臨床効果を報告したものも多くみられる。しかし、クロールヘキシジンはその長期連続使用により歯牙の着色、口腔粘膜および舌の灼熱感、味覚の変化さらには菌交代現象による黒毛舌の発症などの報告もみられる。そのため、長期にわたる連用には問題があるのも事実である。

これらの欠点を克服するためトレーを使用してクロールヘキシジンを投与するが、トレーを使うメリットとしては、多くの抗菌性の薬剤は薬剤が粘膜に接触することによってその副作用が発症することから、歯牙に選択的に薬剤が投与でき、粘膜に薬剤が接する量が最小限にできることが挙げられる。また、一定時間薬剤が唾液に希釈されずに投与可能であること、場合によっては高濃度の薬剤投与が可能であること、患者がホームケアでも使用できることなどが挙げられる。

ミュータンスレンサ球菌は歯牙表面への接着性が強く粘膜に対するレセプターを持たないため、歯牙表面にのみ選択的に生息している。クロールヘキシジンの副作用は主として粘膜に対しクロールヘキシジンが接触することによって生じるものであるから、クロールヘキシジンを歯牙表面にのみ作用させることができれば副作用の発現する率を軽減でき、有用な除菌方法となりうる。

本研究は以下に示す6つの研究から成り立っている。

研究 A

高齢者において口腔内の日和見病原菌を検出する際にそのサンプルとして、歯垢、咽頭、などが考えられる。そこで本研究では特別養護老人ホーム入居者 329 名を対象として、歯垢、咽頭、舌から同時にサンプルを採取し、日和見病原菌の罹患率および検出に際し、最適な検体は何かを検討目的とした。

研究 B

就学前児童における日和見病原菌の罹患率の検討

研究 C

学童における日和見病原菌の罹患率の検討

研究 D

成人における日和見病原菌の罹患率の検討

研究 E

医療従事者における日和見病原菌罹患率の検討および口腔衛生状態と日和見病原菌罹患率の関連性の検討

研究 F

Dental Drug Delivery System(3DS)によるミュータンスレンサ球菌除菌に関する臨床研究

B. 研究方法

1. 検体採取方法

歯垢試料は、対象者の左側上顎臼歯部 5, 6, 7 番(第 2 小臼歯・第 1 大臼歯・第 2 大臼歯) 相当部、乳歯列小児に対しては左側上顎乳臼歯部頰側部 D,E 相当部の歯垢をシードスワブ 1 号の滅菌キャップ付綿棒で数回(5 往復) 擦過し、更に綿棒の綿球を 180 度回転し 5 往復擦過後、キャリブレア・チューブに投入する。研究 A においては、咽頭粘膜上および舌上試料も歯垢と同様にシードスワブ 1 号にて擦過後試料を擦過後、キャリブレア・チューブに投入する。その微生物の有無は培養法にて同定した。他の研究においては、歯垢を検体として用いた。各試料を、血液寒天培地、変法ドリガルスキー培地、チョコレート寒天培地培養、OPA 培地(MRSA 選択培地)、PASA 培地(緑膿菌選択培地)に画線培養し、細菌コロニー数から半定量的に細菌の量を判定して 3 段階に分類した。口腔微生物のリストを参考資料として表 1 に示す。

2. 調査対象および方法

研究 A

65 才から 105 才までの介護の必要な特別養護老人ホーム入居者 329 名(平均年齢 82 才)で、男性が 67 名、女性が 262 名を対象にした。歯垢、咽頭粘膜上および舌上試料それぞれの微生物が検出された人数の全体における割合を算出した。有意差検定は、1 および 5%危険率で χ^2 乗検定を行った。要介護者のうち、生活自立者が 10%、準寝たきり者が 30%、寝たきり者(座位可能)が 32%、寝たきり者(座位不可)が 23%、その他が 5%であった。対象者の全身疾患の既往歴は、脳血管疾患、心疾患、高血圧、糖尿病、肝臓疾患、腎臓疾患、パーキンソン病、悪性腫瘍、整形外科疾患などが記載されたチェックシートに、対象者が内科医によって診断された疾患を記録することにより判定された。

研究 B

中部地区のある地域における就学前児童657名に対し就学前健診にてう蝕原性菌であるミュータンスレンサ球菌、乳酸桿菌の量を定量し、う蝕に対するハイリスクと診断された児童 140 名に治療勧告を通知した。歯科医師会の協力の下で地域各歯科医院にてう蝕治療終了後、歯垢を検体とし、日和見病原菌の検出を行った。

研究 C

甲信越地域の小学校校にて調査を行った。調査対象は年齢 8 歳から 12 歳の児童 256 名である。なおこの小学校ではフッ素洗口を行っている。

研究 D

健康診断において歯科健診および口腔衛生指導を導入している企業 2 社に対して、企業健診にて歯科健診時に歯垢を採取し前述の方法に従い日和見病原菌の検出を行った。3 企業の内訳は事務職主体の企業 2 社（以下企業 A, B）である。企業 A は長年にわたり歯科衛生士による口腔衛生指導を導入してきた企業である。各企業での調査対象人数はそれぞれ 121 名、144 名であり、平均年齢は 38.1, 39.8 歳である。また、歯科検診における口腔内の状態等を表 D-1 に示す。

研究 E

歯科検診を主たる業務としている歯科衛生士 15 名及び老人ホームで勤務するヘルスケアワーカー 14 名を調査対象とし歯垢から日和見病原菌の検出を行った。歯科衛生士の平均年齢は 30.3 歳、ヘルスケアワーカーの平均年齢は 43.6 歳でそれぞれの群における平均 DMF 歯数は 12.3、12.1 である(表 E-1)。

研究 F

調査対象は、歯科医院にメインテナンスの目的で通院する患者のうちインホームドコンセントの得られた患者 20 名を対象とした。これらの患者は抗生物質を常用している者は含まれておらず、2 名の喫煙者、1 名の妊婦が含まれている。20 名の内訳およびデータは年齢 22 歳から 66 歳、平均年齢 39.9 ± 14.0 歳、男性 5 名、女性 15 名、平均 DMFT 17.20 ± 6.20 である。調査対象を選択するため、Dentcult SMにて唾液中のミュータンスレンサ球菌を定量し、Level 2,3 と判定された患者に対して介入処置を行った。Level 2,3 はそれぞれ唾液中のミュータンスレンサ球菌の量が 1ml 中 10⁵CFU から 10⁶、10⁶ 以上の相当し、Dentcult SM の説明書に従いハイリスクと判定した。術前検査として 5

分間刺激唾液中のミュータンスレンサ球菌、乳酸桿菌、総レンサ球菌の量を培養法によって定量した。さらに、5 分間唾液唾液量の定量、唾液緩衝能の定量は Dent Buff によって行った。介入方法は P.M.T.C. (Professional Mechanical Tooth Cleaning) の後、0.2% クロールヘキシジンゲルをドラッグリテーナーにて 5 分間作用させた。余剰のゲルを洗口、フロスにて除去した後、さらにもう一度同じ操作を行った。1 週間後同じ操作を行った。2 回の介入処置の後、3 ヶ月間経過観察を行い、前述の唾液検査を 1,2,3,4,9,12 週後に行い各項目の経時的変化を観察した。

C. 結果

研究 A

要介護者の歯垢内、咽頭、舌において、それぞれ *C. albicans*, 38%, 38%, 40%; *E. cloacae*, 16%, 11%, 13%; *Pseudomonas sp.*(GNFR), 12%, 3%, 17%; *K. pneumoniae*, 9%, 14%, 13%; *X. maltophilia*, 8%, 3%, 4%; *S. aureus* (MSSA), 5%, 2%, 5%; MRSA, 2%, 2%, 4%; *S. marcescens*, 4%, 1%, 9%; *P. aeruginosa*, 4%, 6%, 7%; *Streptococcus anginosus*, 1%, 1%, 1%; *Haemophilus influenzae*, 1%, 1%, 0% が検出された(表 A-1)。また歯垢内に *Pseudomonas sp.* が検出された人の割合は、寝たきりの程度が Slightly (準寝たきり) で 17%, Moderately [寝たきり(座位可能)] で 15% と Not (生活自立) 0% に比べ有意に ($p < 0.01$) 高い事が明らかとなった。また *S. marcescens* 歯垢内感染者も, Completely [寝たきり(座位不可)] で 10% と寝たきりの程度の低い高齢者よりも有意に ($p < 0.05$) 高率である事が明らかとなった。よって *Pseudomonas sp.* と *S. marcescens* の歯垢内感染は、寝たきりの程度に依存していた。要介護者の歯垢内および咽頭内細菌の検出と全身疾患との関連を検討した結果, *C. albicans* と *K. pneumoniae* のどちらかが歯垢内から検出された被験者の心疾患を有する割合 (24%) は、どちらも検出されない群 (13%) に比べ有意に ($p < 0.05$) 高い事が明らかとなった(表 A-2)。またそれらの菌が咽頭から検出された高齢者の高血圧を有する割合 (52%) は、どちらも検出されない群 (36%) に比べ有意に ($p < 0.01$) 高い事も明らかとなった。*C. albicans* や *Pseudomonas sp.* が単独あるいは混合で歯垢内で検出された被験者は、検出されない群より高率に心疾患を有していたが、有意差は認められなかった。しかし、*C. albicans* や *Pseudomonas sp.* のどちらかが検出された被験者は、検出されない群より有意に ($p < 0.05$) 心疾患を有していた。

研究 B

ハイリスク児童 140 名のうち試料が回収できた 93 名から検出された菌種を表 B-1 に示した。また口腔気

道系組織における起炎性によって A：起炎性菌種、B：弱起炎性菌種、C：真菌種、D：口腔内の常在性が低いと考えられる菌種の4つのカテゴリーに分類し、各カテゴリー別の検出例数と検出率を表B-2に示した。

一般的な口腔常在菌（Streptococcus sp.、Neisseria sp.、Corynebacterium sp.等）以外の菌種は37名(39.8%)から検出された。口腔気道系感染症の起炎菌としては、H.influenzae (インフルエンザ菌)1例、S.pyogenes (A群溶連菌)3例、M.(B.)catarrhalis(カタル菌)2例が検出され、1例はH.influenzaeとS.aureusの同時感染例であった。これらの起炎性の高い菌種の検出率は6.5%であった。

Pseudomonas aeruginosa (緑膿菌)は1例1.1%からS.aureusは10例10.8%から検出された。今回検出されたS.aureusは全てmethicillin感受性株(methicillin-susceptible Staphylococcus aureus:MSSA)であった。グルコース非発酵性グラム陰性桿菌種(GNFR)は9例(9.7%)から、また、腸内細菌科のグラム陰性桿菌種が10例(10.8%)から検出され、このうち腸球菌の同時検出例と2菌種検出例がそれぞれ1例みられた。

研究 C

フッ素洗口を実施している小学校の8歳から12歳までの児童256名から検出された菌種を表C-1と表C-2に示した。各カテゴリーは研究Bと同様に分類した。起炎性の高い菌種では、S.pyogenes(A群溶連菌)2例、G群溶連菌1例、Streptococcus pneumoniae (肺炎球菌)1例、H.influenzae (インフルエンザ菌)4例、合計では8例、3.1%から検出された。弱起炎菌種ではPseudomonas aeruginosa (緑膿菌)は1例0.4%から、S.aureusは38例14.8%から、Klebsiella pneumoniaeが3例1.2%から検出された。今回検出されたS.aureusは全てmethicillin感受性株(methicillin-susceptible Staphylococcus aureus:MSSA)であった。グルコース非発酵性グラム陰性桿菌種(GNFR)は11例(4.3%)から、腸内細菌は8例(3.1%)から検出された。Candida sp.は7例2.7%から検出された。

研究 D

企業Aの歯科健診時採取試料から検出された菌種を表D-2に、企業Bのそれを表D-3に示した。企業口腔気道系において起炎性の高い菌種は検出されず、弱起炎菌種が12例9.1%から、その他の菌種が5例3.3%から検出されたのみであった。企業BからはStreptococcus pneumoniae (肺炎球菌)が1例から検出されたが、それ以外では弱起炎性菌種が4例2.8%から、その他の菌種が20例13.9%から検出された。

企業A、Bの検出菌種をまとめたものを表D-4に示した。起炎性菌種検出率0.4%、弱起炎性菌種検出率6%、その他の菌種7.5%であった。

研究 E

今回調査を行った歯科衛生士15名からは日和見病原菌は全く検出されなかった。これに対し、ヘルスケアワーカーからは14名中10名から日和見病原菌が検出された。今回検出された日和見病原菌の種類を表E-2に示す。菌種としては、長期入院患者やComplomized Hostから検出されるといわれているMRSA、MSSA、Pseudomonas aeruginosa、Serratia marcescensが各1例さらに、腸内細菌であるEnterococcus Faecalis、Klebsiella oxytocaが各1例検出された。また、唾液1ml中の乳酸桿菌、総レンサ球菌、ミュータンスレンサ球菌を定量した(表E-3)。歯科衛生士とヘルスケアワーカーの間で乳酸桿菌数、総レンサ球菌数では統計学的な有意差を認められたがミュータンスレンサ球菌数、総レンサ球菌中のミュータンスレンサ球菌数では有意差を認めなかった。

研究 F

ドラッグリテーナーによるクロールヘキシジンの投与によって、5分間刺激唾液中のミュータンスレンサ球菌の量は激減した、4週間後まで術前より低い値を保つことができた。被検者20人の平均値はそれぞれ、術前 3.6 ± 1.1 、1週間後 2.4 ± 0.5 、2週間後 2.9 ± 0.8 、3週間後 3.0 ± 0.8 、4週間後 3.0 ± 0.7 、9週間後 3.1 ± 1.0 、12週間後 3.2 ± 0.8 であり術前と比較して統計学的に有意差のあったのは1,2,3,4週間後までであった(図F-1)。しかし、総レンサ球菌中のミュータンスレンサ球菌の割合をみると術前 2.6 ± 4.3 、1週間後 0.1 ± 0.1 、2週間後 0.4 ± 0.8 、3週間後 0.2 ± 0.2 、4週間後 0.5 ± 1.0 、9週間後 0.5 ± 1.2 、12週間後 0.6 ± 1.2 であり術前と比較してすべてにおいて有意差が認められた(図F-2)。個人別のデータでは、ハイリスクの患者の中でもミュータンスの割合が多い患者に大きな効果が認められた(図F-3)。また、総レンサ球菌および乳酸桿菌の量は術前と比較してすべて統計学的に有意差は認められなかった(図F-4,5)。さらに、従来の報告にあるようなクロールヘキシジンの副作用として知られる、歯牙の着色、口腔粘膜の灼熱感、味覚の変化、黒毛舌の発症は観察されなかった。また、アレルギー症状の発現も観察されなかった。現在、介入処置後1年が経過したが今回介入処置を行った患者には、この間に新たなう蝕は生じていない。

D. 考察

研究 A

要介護高齢者の歯垢は肺炎に関わるような *C. albicans*, *Pseudomonas* sp., *K. pneumoniae*, *X. maltophilia*, *S. aureus* (MSSA; MRSA), *S. marcescens*, *P. aeruginosa* の菌群などの感染を受けている。これらの菌は歯表面のバイオフィルム内に蓄積されて、そのバイオフィルムの一部がはがれ、要介護高齢者において特に誤嚥などを起こした場合は肺へ侵入して行くことになる。その結果、肺炎を誘発する危険性が高まって行く。*Pseudomonas* sp. は寝たきりの程度に依存して歯垢内にて検出された。重度な寝たきりの要介護高齢者は、体力の低下から菌への抵抗力が低下し、また自力による口腔清掃もおろそかになりがちであることから *Pseudomonas* sp. の感染を受けやすくなった可能性が考えられる。*Pseudomonas* sp. は強くバイオフィルムを形成する菌でもあることから、歯表面に従来のバイオフィルムに加えさらに強固なバイオフィルムを形成することが推測される。また *C. albicans* とともに *K. pneumoniae* や *Pseudomonas* sp. の歯垢内感染と心臓病との間に相関関係があることから、強くバイオフィルムを形成する *K. pneumoniae* や *Pseudomonas* sp. が、全身疾患に関わる病原性細菌を歯表面で蓄積させる環境に導いている可能性も考えられる。よって要介護高齢者は、口腔から *K. pneumoniae* や *Pseudomonas* sp. のような菌を指標として除菌する口腔ケアが必要である。これらの口腔ケアが要介護高齢者の健康増進に役立つことが示唆された。

研究 B

口腔気道系感染症の起炎菌としては、*H. influenzae* (インフルエンザ菌)1例、*S. pyogenes*(A群溶連菌)3例、*M. (B.) catarrhalis*(カタル菌)2例が検出され、1例は *H. influenzae* と *S. aureus* の同時感染例であった。これらの起炎性の高い菌種の検出率は6.5%であった。このうち、*H. influenzae* と *S. aureus* を同時に検出した1例は菌の検出状況から、上気道感染症と考えられた。*S. pyogenes* は小児において咽頭炎、扁桃炎の代表的な原因菌であるが今回検出した3例が、炎症性疾患に罹患しているのか、健常保菌者であるかは明確ではなかった。創傷部位での化膿性炎症を起こしやすい *Pseudomonas aeruginosa* (緑膿菌) は1例1.1%から *S. aureus* は10例10.8%から検出された。今回検出された *S. aureus* は全て methicillin 感受性株 (methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*:MSSA) であった。一般に *S. aureus* は健常者鼻腔の約30%に感染が見られるといわれているが、口腔粘膜などに常在叢として定着している可能

性は低いと考えられる。今回検出した10例は、鼻腔由来の菌が手指等を介して、または鼻腔から咽頭粘膜を介して口腔内に移行した菌を検出した可能性がある。しかし、検査対象が唾液中ミュータンスレンサ球菌数の高い舐めハイリスク抽出群であり、不溶性グルカンによるバイオフィルムが歯面に形成されているために口腔内に常在的に感染している可能性もある。グルコース非発酵性グラム陰性桿菌種(GNFR)は9例(9.7%)から検出された。GNFRは、一般に口腔内や咽頭粘膜組織などで常在叢を形成することは少なく、自然水中や土壌中に常在する細菌種であり、環境中の菌が手指を介し口腔内に移行したと考えられる。また、腸内細菌科のグラム陰性桿菌種が10例(10.8%)から検出され、このうち腸球菌の同時検出例と2菌種検出例がそれぞれ1例みられた。これらの菌種は尿路感染症、創傷感染症、呼吸器感染症や化膿性疾患を引き起こすこともありヒトに対する病原性を有しているが、それらは院内感染や易感染性宿主に対する日和見感染が多く、健常人においては口腔内の菌が直接的に起炎性を発揮することは少ないと考えられる。これらの菌種は、ヒトや動物の消化管内で常在細菌叢を形成し、それ以外にも土壌、自然水、下水をはじめ食品などに分布しているが、検出例については、外来の菌が何らかの方法で口腔内に移行したと考えられる。

今回の調査対象が修学前児童で年齢が低いために、清潔でない指を介して多種の雑菌種が口腔内に移行している可能性が高いと思われる。また口腔内において常在性が低いと考えられる菌種が24例(25.8%)と1/4の児童から検出されている。今回検出されたGNFRと腸内細菌種は、一般に臨床材料から検出された場合に、ペニシリン系の抗生剤に耐性を有する菌種であるが、小児の感染症例の場合にはペニシリン系の薬剤を投与される場合が多く、抗生剤の投与と検出菌種に何らかの関連性がある可能性も否定できない。

口腔気道系起炎菌種は6例から検出されたが、それ以外には口腔内での病原性が特に高いと考えられる菌種は検出されなかった。しかし、一般に口腔常在叢には含まれない菌種の検出例が多く、この原因として、調査対象が低年齢であること以外に、口腔内ミュータンスレンサ球菌数が高い舐めハイリスク群であるため、口腔内に移行した雑菌種がバイオフィルムに定着している可能性も考えられる。今後、同一年齢層でミュータンスレンサ球菌量の少ない対照群との比較調査が必要と思われる。

研究 C

フッ素洗口を実施している小学校の8歳から12歳までの児童256名から検出された菌種を表C-1と表C-2に示した。各カテゴリーは研究Bと同様に分類した。起炎性の高い菌種では、*S. pyogenes*(A群溶連菌)2例、G群溶連菌1例、*Streptococcus pneumoniae*(肺炎球菌)1例、*H. influenzae*(インフルエンザ菌)4例、合計では8例、3.1%から検出された。この検出率は、研究Bの就学前児童のおよそ半分であった。

弱起炎菌種では*Pseudomonas aeruginosa*(緑膿菌)は1例0.4%から、*S. aureus*は38例14.8%から、*Klebsiella pneumoniae*が3例1.2%から検出された。今回検出された*S. aureus*は全てmethicillin感受性株(methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*:MSSA)であった。グルコース非発酵性グラム陰性桿菌種(GNFR)は11例(4.3%)から、腸内細菌は8例(3.1%)から検出された。*Candida sp.*は7例2.7%から検出された。

結果をまとめると、起炎性菌種は8例3.1%、弱起炎性菌種は42例16.4%、A,B以外の口腔内での常在性が低いと考えられる菌種は32例12.5%から検出された。これらの検出率を就学前児童と比較すると、起炎性の高い菌種とおよびGNFR、腸内細菌の検出率が低下し、逆に*S. aureus*の検出率が上昇していた。また全ての菌種を含む全体の検出率は就学前児童のおよそ60%であった。

口腔気道系起炎菌種を検出した8例を除き、口腔内での病原性が特に高いと考えられる菌種は検出されなかった。また検出された菌種は環境中に常在すると考えられる菌種が多く、口腔内に移行した雑菌種が検出されていると考えられた。

研究 D

企業Aの歯科健診時採取試料から検出された菌種を表D-2に、企業Bのそれを表D-3に示した。企業口腔気道系において起炎性の高い菌種は検出されず、弱起炎菌種が12例9.1%から、その他の菌種が5例3.3%から検出されたのみであった。企業Bからは*Streptococcus pneumoniae*(肺炎球菌)が1例から検出されたが、それ以外では弱起炎性菌種が4例2.8%から、その他の菌種が20例13.9%から検出された。企業Aは長年にわたり歯科衛生士による口腔衛生指導を導入してきた企業であるが、口腔内微生物の検出率では企業Bとの間に差は生じなかった。しかし検出された菌種をみると、真菌種である*Candida sp.*が検出されていないが企業Aでは、*Serratia*やMSSAの検出率が高く、逆に*Candida sp.*が検出された企業Bで

は一般債菌種の検出率が低下している。この理由として、真菌種は一般的な抗生剤に感受性がなくまた消毒剤などに対しても耐性度が高いために、真菌種の存在によって一般債菌種が抑制を受けていることが考えられる。但し今回の調査では検出率が低く、口腔内の菌量が少ない場合には検出できない可能性も考えられることから、試料採取法なども含めた検討が必要と考えられた。

企業A,Bの検出菌種をまとめたものを表D-4に示した。起炎性菌種検出率0.4%、弱起炎性菌種検出率6%、その他の菌種7.5%であり就学前児童や学童と比較すると低い検出率であった。

研究 E

乳酸桿菌数や総レンサ球菌数は口腔内ケアによってコントロールが可能であり、積極的な口腔内ケアによって日和見病原菌を口腔内から除去することはある程度可能であることが推測される。一方、ミュータンスレンサ球菌は歯面に選択的に生息しバイオフィルムを形成する。また、今回調査を行った合計29名は抗菌性の薬剤の服用をしておらず、また口腔ケアに対し抗菌性に薬剤を使用していない。以上のことからミュータンスレンサ球菌に対してはプロフェッショナルケアや抗菌性の薬剤の使用が望まれることが示唆された。また、日和見病原菌感染予防に対しては口腔ケアが大きな役割を果たしていることが明らかとなった。

研究 F

市販されている薬剤で3DSに使用できるものはクロールヘキシジン、ポビドンヨード、フッ化ナトリウムなどが挙げられる。フッ化ナトリウムは他の薬剤と比較してその分子量が小さいため、バイオフィルム表面を通過し、歯面に直接作用する可能性を持っているがその作用はあくまでも歯質の強化、細菌の再付着防止であり抗菌作用はない。また、ポビドンヨードは、グラム陽性菌、グラム陰性菌のみならずウイルスに対してもその抗菌効果を発揮するといわれているが、分子量の大きさからバイオフィルム表面を通過できない。また、実際に口腔内に使用した場合の臨床試験の結果は海外文献においても報告が見られない。クロールヘキシジンは本邦においては粘膜に対する使用制限があるが、ミュータンスレンサ球菌に対する抗菌作用が強く、歴史的にも多くの臨床研究が行われてきた薬剤である。しかし、ポビドンヨードと同様にその分子量の大きさからバイオフィルム表面を通過できない。以上の観点から3DSによってミュータンスレンサ球菌を除菌する場合、Professional Mechani-

cal Tooth Cleaning(P.M.T.C.)等によって機械的にバイオフィルムを除去することが必須となる。以上の観点をふまえ3DSによるクロールヘキシジンを用いたミュータンスレンサ球菌の除菌の臨床試験を試みた。3DSによってミュータンスレンサ球菌は効率よく口腔内から除菌できることが明らかとなった。日和見病原菌等の病原菌に関してはさらに今後検討してゆく予定である。

3DSは臨床術式としても簡便であり、3DSに使用する薬剤、3DSの適応症等を臨床研究で判定している。

E. 結論

日和見病原菌の検出方法の確立として歯垢、咽頭、舌の細菌に比較検討を行った結果、日和見病原菌の検出には歯垢を検体とすることが最適であることが明らかとなった。日和見病原菌の罹患率では、就学前児童で39.8%, 学童で23.4%, 就業年齢の成人(平均年齢39歳)では14%、老人では34.4%であった。口腔内からの病原性微生物の除去方法のモデルとして開発したDental Drug Delivery System(3DS)によってミュータンスレンサ球菌が効率よく除菌され、さらに副作用の発現を極力抑えた臨床術式として非常に有用な方法であることが示唆された。

F. 研究発表

1. Takeuchi H, Senpuku H, Matin K, Kaneko N, Yusa N, Yoshikawa E, Ida H, Imai S, Nisizawa T, Abei Y, Kono Y, Ikemi T, Toyoshima Y, Fukushima K, Hanada N. New dental drug delivery system for removing mutans streptococci from the oral cavity: effect on oral microbial flora. *Jpn J Infect Dis* 53:211-212, 2000.

2. Suzuki, T., Tagami, J., Hanada, N. (1999): Role of F1F0-ATPase in the growth of *Streptococcus mutans* GS5. *J Appl Microbiol* 88:555-562, 2000.

3. Hanada N. Current understanding of the cause of dental caries. *Jpn J. Infect. Dis.* 53:1-5, 2000.

4. 花田信弘、鈴木剛：Streptococcus mutansの増殖における膜貫通型F1F0-ATPaseの役割、Bacterial Adherence研究、13：12-16, 2000.

5. 泉福英信、花田信弘、う蝕の原因と対策、感染・炎症・免疫 30：2-10, 2000.

6. 花田信弘、むし歯ワクチン、BIO Clinica 15: 48-52, 2000.

G. 知的所有権の獲得

該当なし

厚生科学研究費補助金分担研究報告書

分担研究者 田沢光正(岩手県保健福祉部課長補佐)
分担研究者 佐藤保(岩手県歯科医師会常務理事)
分担研究者 及川慶一(岩手県医師会常任理事)

厚生科学研究費補助金（政策科学推進 研究事業）
分担研究報告書

地域歯科医療における感染症に対する危機管理システムの検討

分担研究者

田沢光正 岩手県・保健福祉部・課長補佐
佐藤 保 岩手県歯科医師会・常務理事
及川慶一 岩手県医師会・常任理事

研究要旨：国立感染症研究所に協力して、各年齢層の人々の歯や義歯など口腔にはどのような病原体が定着しているのかを調査した。調査対象は、研究Aでは特別養護老人ホーム入居者329名。研究Bでは、幼児（5 - 6歳）657名、研究Cでは、8-12歳の児童256名、研究Dでは、成人（平均年齢38.1歳の集団121名および39.8歳の集団144名）、研究Eでは歯科衛生士（平均年齢30.3歳）15名およびヘルスケアワーカー（平均年齢43.6歳）14名である。検査材料は、歯垢（表層）、咽頭ぬぐい液である。シードスワブ1号による擦過にて材料採取をおこない、培地にて培養して検出した。

研究A-Eの結果を分析すると口腔からは幼児を含む各年齢層で起炎性の高い病原体が多数検出された。医師会、歯科医師会、保健所が連携して、これらの日和見病原菌を未然に除去する社会システムを確立する必要があることが明らかとなった。

A. 研究目的

「感染症の予防および感染症の患者に対する医療に関する法律案」が施行され、新しい危機管理体制が整備されている。岩手県でもその対応が協議されている。歯科の分野においても口腔感染症に対する対策が必要であるが、岩手県では十分な検討がなされていない。在宅訪問診療や老人介護施設における歯科診療に際してどのような口腔の病原体に遭遇しているのかを具体的に調査し、その対策を立案する必要がある。

B. 研究方法

対象：研究Aでは特別養護老人ホーム入居者329名。研究Bでは、幼児（5 - 6歳）657名、研究C

では、8-12歳の児童256名、研究Dでは、成人（平均年齢38.1歳の集団121名および39.8歳の集団144名）、研究Eでは歯科衛生士（平均年齢30.3歳）15名およびヘルスケアワーカー（平均年齢43.6歳）14名である。

検査材料：歯垢（表層）、咽頭ぬぐい液。

使用容器及び採取方法：専用採取器具（シードスワブ1号；BML, 東京）にて歯面ならびに咽頭後壁を擦過し採取。検体を輸送後培養し、呼吸器系感染症の関連微生物を中心に検出した。

C. 研究結果

採取検体を培地で培養した結果、各年齢層の歯垢から、呼吸器系感染症の微生物が多数検出された。主な検出菌は以下の通りである。*Candida albicans* ; *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas* 属、*Xanthomonas maltophilia*, *Staphylococcus aureus* (MSSA); *Staphylococcus aureus* (MRSA) ; *Streptococcus pneumoniae*(肺炎球菌) ; *Pseudomonas aeruginosa*(緑膿菌); *Branhamera catarrhalis* ; *Klebsiella ozaenae*; *Klebsiella pneumoniae* (肺炎桿菌) ; *Haemophilus influenzae* (インフルエンザ菌); *Haemophilus parainfluenzae* (パラインフルエンザ菌)。

以上のように平成12年度は、各年齢層の人々の歯や義歯にはどのような病原体が定着しているのかを調べた。その結果、幼児(5-6歳)を含む各年齢層の口腔からは呼吸器系感染症などに関連する起炎性の高い病原体が多数検出されることがわかった。

D. 考察

Pseudomonas aeruginosa (緑膿菌) はバイオフィルム形成菌としてよく知られているが、歯面でも増殖していることが初めてわかった。また、黄色ブドウ球菌、インフルエンザ菌や緑膿菌などの菌は、インフルエンザウイルスの活性化や老人の誤嚥性肺炎との関連が指摘されているので、口腔ケアによる、的確な除菌対策が必要であることが示唆された。

歯科衛生士の集団からは、日和見病原菌が検出されないことから、口腔ケアによる除菌が効果的

であることが窺える。

「感染症の予防および感染症の患者に対する医療に関する法律案」が施行され、新しい危機管理体制が整備されている。歯科の分野においても感染症に対する対策が必要であるが、十分な検討がなされていない。在宅訪問診療や老人介護施設における歯科診療に際してどのような病原体に遭遇しているのかを具体的に調査し、その対策を立案する必要があった。また、このデータは介護老人の口腔ケアプラン作成の資料にも使用できる。更にデータを補強すると共に、医師会と歯科医師会および保健所の間で、感染症に対する危機管理のための一次医療、二次医療および三次医療圏の確立について更に検討していく必要があると思われる。

E. 結論

幼児を含む各年齢層の人々の口腔からは呼吸器系感染症などに関連する起炎性の高い病原体が多数検出された。これらの日和見病原体は歯面のバイオフィルムの中で増殖していると考えられる。

医師会、歯科医師会、保健所が連携して、これらの日和見病原菌を未然に除去する社会システムを確立する必要があることがわかった。

F. 研究発表

なし

G. 知的所有権の取得

該当なし

付 録 資 料 集

表 1 : 今回調査を行った日和見病原菌の種類

Bacteria

Coagulase negative staphylococcus (CNS)	<i>Flavobacterium gleum</i>
<i>Staphylococcus aureus</i> (MSSA, MRSA)	<i>Flavobacterium odoratum</i>
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Flavobacterium resicularis</i>
<i>Streptococcus anginosus</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>
β-Streptococcus (type A)	<i>Haemophilus parainfluenzae</i>
β-Streptococcus (type B)	<i>Klebsiella</i> sp.
β-Streptococcus (type C)	<i>Klebsiella oxytoca</i>
β-Streptococcus (type D)	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Klebsiella ozaenae</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>
<i>Acinetobacter</i> sp.	<i>Morganella morganii</i>
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Acinetobacter Iwoffii</i>	<i>Providencia stuartii</i>
<i>Actinobacillus ureae</i>	<i>Providencia alcalifaciens</i>
<i>Aeromonas hydrophilia</i>	<i>Pseudomonas</i> sp.
<i>Agrobacterium</i> sp.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Alcaligenes</i> sp.	<i>Pseudomonas cepacia</i>
<i>Alcaligenes faecalis</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
<i>Alcaligenes xyloxydans</i>	<i>Pseudomonas putida</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Pseudomonas stutzeri</i>
<i>Comamonas acidovorans</i>	<i>Rahenella aquatilis</i>
<i>Enterobacter</i> sp.	<i>Serratia</i> sp.
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Serratia liquefaciens</i>
<i>Enterobacter agglomerans</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Enterobacter amnigenus</i>	<i>Serratia phymuthica</i>
<i>Enterobacter asburiae</i>	<i>Serratia rubidaea</i>
<i>Enterobacter cancerogenus</i>	<i>Xanthomonas maltophilia</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Bacillus cereus</i>
<i>Enterobacter gergoviae</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Enterobacter sakazakii</i>	<i>Candida glabrata</i>
<i>Enterobacter taylora</i>	<i>Candida krusei</i>
<i>Escherichia</i> sp.	<i>Candida parapsilosis</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Candida tropicalis</i>
<i>Flavobacterium</i> sp.	<i>Trichosporon</i> sp.
<i>Flavobacterium indologenes</i>	<i>Rhodotorula</i> sp.
<i>Flavobacterium meningosepticum</i>	

表A-1-1: 歯垢、唾液、咽頭から検出された細菌とその頻度

	Dental Plaque	Saliva	Pharynx
	n=125 No. (%)	n=125 No. (%)	n=125 No. (%)
<i>Enterobacter cloacae</i>	13(11)	23 (19)	20 (16)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	2 (2)	3 (3)	6 (5)
<i>Enterobacter sazakii</i>	0 (0)	2 (2)	0 (0)
<i>Enterobacter sp.</i>	5 (4)	7 (6)	7 (6)
<i>Enterobacter agglomerans</i>	4 (3)	7 (6)	4 (3)
<i>Enterococcus faecalis</i>	4 (3)	5 (4)	9 (8)
<i>Enterococcus sp.</i>	0 (0)	2 (2)	1 (1)
<i>Escherichia coli</i>	1 (1)	4 (3)	2 (2)
<i>Ekenella corrodons</i>	1 (1)	0 (0)	0 (0)
<i>Kebsiella pneumoniae</i>	9 (7)	29 (23)	13 (11)
<i>Kebsiella oxytoca</i>	4 (3)	6 (5)	6 (5)
<i>Kebsiella ozaenae</i>	0 (0)	0 (0)	1 (1)
<i>Kluyvera sp.</i>	1 (1)	3 (2)	1 (1)
<i>Candida albicans</i>	18 (14)	21 (17)	1 (1)
<i>Candida parapsilosis</i>	0 (0)	1 (1)	1 (1)
<i>Candida tropicalis</i>	0 (0)	1 (1)	0 (0)
<i>Corynebacterium sp.</i>	7 (6)	1 (1)	2 (2)
<i>Citrobacter freundii</i>	3 (3)	3 (3)	1 (1)
<i>Comamonas acidovorans</i>	3 (3)	1 (1)	1 (1)
<i>Pseudomonas sp.</i>	5 (4)	3 (3)	5 (4)
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	3 (3)	6 (5)	5 (4)
<i>Pseudomonas putida</i>	1 (1)	3 (3)	5 (4)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 (1)	1 (1)	0 (0)
<i>Pseudomonas cepacia</i>	1 (1)	0 (0)	0 (0)