

厚生労働科学研究費補助金

医薬技術評価総合研究事業

# 歯科医療における院内感染 防止システムの開発

平成17年度 総括・分担研究報告書

主任研究者

泉 福 英 信

平成18（2006）年3月

## 目 次

I. 総括研究報告	----- 1
歯科医療における院内感染防止システムの開発	
泉福英信	
II. 分担研究報告	
1. 歯科診療における院内感染対策の意識調査とその分析	----- 13
小森康雄	
2. デンタルユニット内循環水における微生物の同定および	----- 27
評価システムの開発	
泉福英信	
3. バイオフィルム検査およびその検討	----- 33
公文裕巳	
4. 院内感染における監視体制の構築	----- 37
狩山玲子	
5. 歯周病診療における院内感染の検討	----- 41
高柴正悟	
6. 全身疾患と院内感染との関与	----- 69
西村英紀	
7-1. LAMP 法を用いた口腔細菌新検出法の確立に関する研究	----- 71
7-2. 歯学部学生や歯科衛生士学校生に対する院内感染	----- 73
防止対策に関する意識調査について	
苔口 進	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	----- 75
IV. 研究成果の刊行物・別刷	----- 77

# I. 総括研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（医療技術評価総合研究事業）

総括研究報告書

「歯科医療における院内感染防止システムの開発」

主任研究者 泉福英信（国立感染症研究所・細菌第一部・室長）

研究要旨： 歯科医療を行うにあたって、その安全性の確保は最も重要な課題であるが、院内感染リスクは未だ減少しておらず、その監視体制の整備が望まれている。そこで本研究は、歯科医療における院内感染防止システムの開発するために、平成 17 年度は 8 つの研究班を組織して研究を行った。

「歯科診療における院内感染対策の意識調査とその分析」では、神奈川県および愛知県に所属する歯科医師 3912 人および 3271 人に対しアンケート調査を実施し分析を行った。その結果、大学の卒業年度が近年であるほど院内感染対策に対する意識が高くなる傾向を示し、大学教育に院内感染の概念を盛り込むことが重要であることを明らかにした。また、すでに卒業した歯科医師に対する卒後研修が重要であることも示唆した。これらが、HIV 感染者に対する歯科治療の受け入れ行動に反映していくと考えられた。

「デンタルユニット内循環水における微生物の同定および評価システムの開発」では、デンタルユニット内循環水を採取して、一般細菌や緑膿菌、大腸菌などの病原細菌の検出を神奈川県内 3 施設において、製造後使用開始してから 12 年以上経過しているデンタルユニット配水を用いて検討を行った。いずれの施設においても、一般細菌や病原細菌は検出されなかった。今後、施設数を増やして検討する予定である。

「バイオフィーム検査およびその検討」では、キャピラリーフローセルシステムは、抗バイオフィーム剤開発のための新しい実験・評価系として有用であり、歯科医療における院内感染防止システムの開発に応用できる。

「院内感染における監視体制の構築」では、在宅療養患者において、口腔・唾液の細菌検査ならびに使用頻度の高い吸引（口腔・鼻腔・気管内）カテーテルの細菌汚染状況の検査は、医療器具の感染防止システムの構築の上で必要であることを示した。

「歯周診療における院内感染の検討」では、骨髄移植患者のような易感染性宿主に対する歯周病診療における口腔内細菌量の評価方法を確立し、その歯周病診療における歯周病細菌の感染状況と口腔ケア時における歯周病細菌の飛散状況を把握した。

「全身疾患と院内感染との関与」では、歯科診療中に手袋で触れる可能性の高いデンタルユニット 2 箇所（チェア一作動ボタン、无影灯把持部）から日和見菌の検出を試みた。その結果 40 名中 2 名の患者診察後、作動ボタンからカンジダ菌を検出した。日和見菌を有する患者の歯科治療によって院内感染が惹起される可能性が示唆された。

「LAMP 法を用いた口腔細菌新検出法の確立に関する研究」では、LAMP 法が、目視判定が可能なことや反応時間が短いことからチェアサイドでの歯科臨床細菌検査に有効に活用できるため歯科診療院内感染の指標の検討に有用であることを示した。

「歯学部学生や歯科衛生士学校生に対する院内感染防止対策に関する意識調査について」では、歯学部 1、2 年生さらには歯科臨床実習中の歯学部 6 年生も微生物学や感染防御などの専門知識と技術の修得に高い関心のあることから認められ、院内感染対策の教育カリキュラムや体制の充実が重要であることを明らかにした。

分担研究者

小森康雄 東京医科大学 講師  
公文裕己 岡山大学大学院教授  
狩山玲子 岡山大学大学院助手  
高柴正悟 岡山大学大学院教授  
西村英紀 岡山大学大学院助教授  
苔口 進 岡山大学大学院助教授

(小森班)

米沢英雄 国立感染症研究所協力研究員

(泉福班)

米沢英雄 国立感染症研究所協力研究員

(公文班)

狩山玲子 岡山大学大学院助手  
門田晃一 岡山大学大学院助手  
上原慎也 岡山大学大学院助手  
光畑律子 岡山大学大学院技術補佐員

(狩山班)

犬飼昌子 岡山大学医学部保健学科助手  
野村佳代 岡山大学医学部保健学科助手  
千田好子 岡山大学医学部保健学科教授  
光畑律子 岡山大学大学院技術補佐員

(高柴班)

藤本千代 岡山大学大学院研究員  
宮川淳子 岡山大学大学院研究員  
杉浦裕子 岡山大学大学院研究員  
曾我賢彦 岡山大学大学院研究員  
前田博史 岡山大学大学院助手  
前田知子 医療法人長光会長島病院歯科  
大谷久美 医療法人長光会長島病院歯科  
金中章江 医療法人長光会長島病院歯科

(西村班)

前田博史 岡山大学大学院助手

高柴正悟 岡山大学大学院教授  
苔口 進 岡山大学大学院助教授

(苔口班)

前田博史 岡山大学大学院助手  
宮川淳子 岡山大学大学院研究員  
西村英紀 岡山大学大学院助教授  
高柴正悟 岡山大学大学院教授  
佐藤法仁 岡山大学大学院  
渡辺朱理 岡山大学大学院

A. 研究目的

「歯科診療における院内感染対策の意識調査とその分析」

歯科医療における院内感染対策に対する意識や現状を把握するために一般歯科診療所を開業している歯科医師を対象にアンケート調査を実施し、その結果を分析し院内感染対策を積極的に歯科医院に取り入れ、行動を起せるためになにが必要であるか明らかにし、その対策を構築していくことを目的とする。

「デンタルユニット内循環水における微生物の同定および評価システムの開発」

歯科用ユニット内循環水における有効な微生物汚染検査システムあるいはツールを開発し、それらの方法を利用してさらにデータの蓄積を行い、歯科用ユニット内循環水における院内感染を客観的に評価し、歯科医療において行動の伴う院内感染防止システムを確立することを目的とする。

「バイオフィルムの検査およびその検討」

昨年度までに確立したバイオフィルム実験モデル系であるキャピラリーフローセルシステムを用いた検討を継続するとともに、クランベリー代謝関連化合物を用いたバイ

オフィルム形成抑制剤を評価することを目的とする。

#### 「院内感染における監視体制の構築」

誤嚥性肺炎を発症して入院した在宅療養患者および脳神経系病棟に入院している患者の口腔ケアの実態調査を行うとともに、口腔・唾液の検査のみならず、口腔を介して装着される気管内吸引カテーテル（以下、吸引カテーテル）への付着菌およびバイオフィルム形成菌の同定および定量を行い、口腔に挿入する医療器具の細菌汚染を評価することを目的とする。

#### 「歯周診療における院内感染の検討」

口腔細菌の感染症である歯周病の治療や有病者の口腔由来感染を防止する目的の口腔ケア時において、口腔細菌の感染状況と口腔細菌の周囲への飛散状況を知ることが目的とする。

#### 「全身疾患と院内感染との関与」

全身疾患を有し、日和見感染を受けた患者の歯科治療において、口腔内を触れた手が触ることの多い場所としてチェア一作動ボタンや無影灯の把持部を触り、日和見菌が伝播するか検討することを目的とする。

#### 「LAMP法を用いた口腔細菌新検出法の確立に関する研究」

LAMP法は栄研化学株式会社によって近年開発された簡易で迅速かつ高感度な新しい遺伝子増幅法である。このLAMP法を用いて主要な歯周病細菌検出法を確立し、歯科医療における院内感染防止システムに役立てることを目的とする。

「歯学部学生や歯科衛生士学校生に対する院内感染防止対策に関する意識調査について」

これから歯学部臨床実習の現場で臨床教育を受けて、歯科医療従事者となる歯学部学生や歯科衛生士学校生に対して病原微生物（HBV、HCV、HIV、結核、MRSAなど）や院内感染防止対策に関する教育やその習熟度合い、意識や関心などを調査し、それらの結果を分析し院内感染防止対策につなげていくことを目的とする。

#### B. 研究方法

「歯科診療における院内感染対策の意識調査とその分析」

##### 調査対象

1) 平成16年に行った神奈川県歯科医師会所属3912人を対象にアンケート調査の有効回答のあった742人(19%)を再分析した。卒後研修を受けたグループと受けないグループか出版物による自己研修をしたグループとしないグループに分け、それぞれの質問項目におけるグループ間の差を算出し、それぞれの研修の効果について検討を行った。

2) 愛知県歯科医師会所属3271人を対象にアンケート調査を行い、有効回答のあった2018人(61.7%)のアンケート結果を分析対象とした。院内感染に対する意識および知識に関する質問を行い、得られた回答から割合を算出した。卒業年度の違いで、5つのグループに分ける質問を加え、それぞれの質問との関連性を重回帰分析を用いて検討を行った。

「デンタルユニット内循環水における微生物の同定および評価システムの開発」  
菌の分離同定

## 1. 検体

・歯科用ハンドピース、超音波スケーラー、エアースリンジからの検水は滅菌したポリエチレンビンに500mlそれぞれ2本ずつ採取する。・コントロールとして水道水を同様に2本採取する。

・2本のうち1本はアメーバ分離用。もう1本には塩素中和用の25%チオ硫酸ナトリウムを1/500を加えておき、微生物学的検査をする。検体は採取後速やかに、クーラーボックスに入れ搬入し、検査は出来るだけ早く(2時間以内に、遅くとも48時間以内に)始める。残余の検水は4℃で保存しておく。採取された検体の菌数を予測出来ないため、濃縮検体と非濃縮検体を並行して検査する。

・濃縮検体(下記の2ml)は、3等分して、未処理、熱処理、アルカリ処理し、それぞれ一般細菌及びレジオネラ属菌、レジオネラ属菌、抗酸菌の検出用とする。

## 2. レジオネラ属菌について

培養法、PCR法や検出用キットを用いて定量および同定する。

## 3. 抗酸菌について

培養・生化学的性状・DDH・塩基配列決定などの方法により同定試験を行う。

## 4. 一般細菌について

標準寒天培地を用いて36±1℃、24±2時間培養する。

## 5. 従属栄養細菌について

従属栄養細菌数はR2A寒天培地を用いて20℃、42℃で7日間培養する。

## 6. 黄色ブドウ球菌について

1) トリプトソイブイオンを用いて、35℃、24~48時間培養する。

2) 培養後、1白金耳を卵黄加マンニット食塩寒天培地に接種し、35±1℃、48±3時間培養する。

2) 卵黄反応陽性、カタラーゼ陽性、コアグララーゼ陽性菌を黄色ブドウ球菌とし、MPN法により菌数を求める。

## 7. 大腸菌について

1) 試料10ml、1mlおよび0.1mlをコリラート培地各3本ずつに接種する。

2) 35±1℃で24±2時間培養し、黄変したものを大腸菌群陽性、紫外線(385nm)下で蛍光のある場合を大腸菌陽性とする。

3) MPNにより菌数を求める。

## 試料の採取

施設Aの昭和63年7月製造、施設Bの平成4年5月製造、施設Cの平成2年4月製造のデンタルユニットのスリーウェイシリンジおよびタービンから、月曜日の朝、診療開始前にそれぞれ500mlの水を採取する。また、コントロールとして各施設の水道水も併せて500ml採取する。試料を遠心にて100倍に濃縮し、上述の検出法にて微生物の定量的な検討を行う。

## 「バイオフィーム検査およびその検討」

① *Pseudomonas aeruginosa* OP14-210 および GFP (green fluorescent protein) 産生 OP14-210 (pMF230) 株を用いた。人工尿における浮遊菌に対するレボフロキサシン (LVFX)、ホスホマイシン (FOM)、アジスロマイシン (AZM) の MIC (μg/ml) は、それぞれ 8、64、>2048 であった。ガラスキャピラリー中に菌株を接種して、人工尿を 20 ml/h の流速で灌流し、バイオフィームを形成させた。使用した薬剤濃度は LVFX 10 x MIC、FOM 3 x MIC、AZM 2、8、32 μg/ml であり、薬剤無添加と薬剤作用後のバイオフィームを共焦点レーザー走査型顕微鏡で観察した。GFP 非産生株が形成したバイオフィームは、蛍光染色キットを用

いて生菌と死菌を染め分けた。

②大腸菌性バイオフィルムに対するクランベリー代謝関連化合物の抑制効果を評価するために、微量 (mg 単位) 成分も評価することができるペグ付き 96 穴マイクロプレートを用いて、バイオフィルムの形成能を定量化した。

#### 「院内感染における監視体制の構築」

在宅療養患者 38 名が使用した気管内吸引カテーテル 38 本が収集され、それぞれのカテーテルをチューブミキサーで処理後、種々の寒天培地 (普通寒天培地 [一般細菌用]、卵黄加マンニット食塩培地 [ブドウ球菌用]、DHL 寒天培地 [腸内細菌用]、PASA 培地 [緑膿菌用]) で培養し、生菌数測定および同定を行った。また、走査型電子顕微鏡により、カテーテル付着菌・付着物の形態学的観察を行った。

#### 「歯周診療における院内感染の検討」

1 造血幹細胞移植患者の口腔内細菌の感染状況を、口腔内の臨床所見と合せて調べた。

1) 細菌の検出には培養法を、総細菌数の検討には 16S rRNA 遺伝子のリアルタイム PCR 法を用いた。

2) 口腔内の感染予防に乾燥防止ゲルを用いて、使用前後での患者の感想や細菌数の変化を調べた。

3) 同ゲルの *in vitro* での抗菌性を標準的な菌株を用いて調べた。

2. 歯科診療チェアで口腔ケアを行った際に周囲へ飛散する口腔細菌の状況を調べた。

1) 生菌が飛散しているか、ATP 活性を調べた。

2) 細菌数の検討には、16S rRNA 遺伝子のリアルタイム PCR 法を用いた。

3) 飛散した細菌にメチシリン耐性に関わる *mecA* が検出されるか PCR 法で調べた。

3. PCR 法よりも簡便で迅速な等温遺伝子増幅法である LAMP 法を用いた口腔細菌検出方法の普及を試みた。

#### 「全身疾患と院内感染との関与」

岡山大学病院歯周科受診患者 40 名 (男性 18 名、女性 22 名、年齢 41 - 83 歳、平均 66.3 ± 9.2 歳) を対象として、歯科診療後直ちにチェア駆動ボタンと無影灯把持部からスワブを用い接触部位を数回拭き、付着菌をサンプリングした。サンプルは直ちにビー・エム・エル社 (東京) へ送付し、同社製日和見感染検出キット (培養法) を用いて日和見菌の検出を試みた。サンプリング後、同部位をアルコール綿で十分に清拭した後に同様の操作を行い、アルコール綿清拭による効果を検討した。

#### 「LAMP 法を用いた口腔細菌新検出法の確立に関する研究」

1. 供試菌株 : *P. gingivalis*、*Actinobacillus actinomycetemcomitans*、*Tannerella forsythia*、*Eikenella corrodens*、*Fusobacterium nucleatum*、*Prevotella intermedia*、*Treponema denticola* などの主要な歯周病細菌の標準株を用いた。

2. DNA 抽出 : サンプルの DNA 抽出は InstaGene Matrix (Bio-Rad) を用いて行なった。

3. LAMP プライマー設計 : それぞれの歯周病細菌 16S rRNA 遺伝子の菌種特異領域を標的にプライマー設計ソ



フト Primer Explorer ver.2 (富士通) を用いて設計した。

4. LAMP 法による DNA 増幅および検出: 設計したプライマーと Loopamp DNA amplification kit (栄研化学) を用いて検出感度や特異性を調べた。増幅産物の検出は電気泳動、SYBR Green I での蛍光測定で行なった。

「歯学部学生や歯科衛生士学校生に対する院内感染防止対策に関する意識調査について」

1. 対象者: 歯学部 1、2 年生 111 名 (平均年齢 19.5 歳) および歯科臨床実習中の歯学部 6 年生 56 名 (平均年齢 25.3 歳)。
2. アンケート調査: 歯学部 1、2 年生に対しては微生物学に対する意識調査 [微生物学の分野で学びたい領域、感染制御医師 (Infection Control Doctor: ICD) への関心など] また歯学部 6 年生に対しては感染制御医師 (ICD) に関する意識調査をそれぞれアンケート用紙による質問で行ない、無記名方式で実施した。

### C. 研究結果・考察

「歯科診療における院内感染対策の意識調査とその分析の研究結果と考察」

- 1) 神奈川県歯科医師会に所属する歯科医師を対象としたアンケート調査を用いた分析。

卒後研修を受けたグループと受けないグループに分けて、「ユニバーサルプレコーション」とは何か知っていますか」という質問をすると、卒後研修を受けたグループで 17.5% の人が理解しているという回答をした。一方、卒後研修を受けていないグループでは 5.7% の人が理解しているという回答

をし、卒後研修を受けたグループよりも低い値となった。また、自己研修 (出版物の利用) をしたグループとしてないグループに分けて、「ユニバーサルプレコーション」とは何か知っていますか」という質問をすると、自己研修をしたグループで 8.3% の人が理解しているという回答をした。一方、自己研修をしてないグループでは 8.2% の人が理解しているという回答をし、自己研修をしたグループと同程度となった。出版物などを利用した自己研修では全く効果がないが研修会への参加は院内感染対策の認識を高くさせる傾向が認められた。

- 2) 愛知県歯科医師会所属歯科医師を対象としたアンケート調査の分析

#### a) 研修と院内感染対策との関係について

愛知県歯科医師会に所属する歯科医師 3271 人に対して大学の卒業年度の違いの質問を盛り込みアンケート調査を行った。2018 人から回答があり、61.7% と非常に高い回収率を示した。卒業年度を 5 つのグループに分け検討を行うと、すべてのグループにおいてユニバーサルプレコーションの理解率が 10% 以下であったが、昭和 40 年以前に卒業したグループ (n=118) で 5.1%、昭和 41 年～50 年に卒業したグループ (n=474) で 3.6%、昭和 51 年～60 年に卒業したグループ (n=829) で 5.4%、昭和 61 年～平成 7 年に卒業したグループ (n=451) で 8.3%、平成 8 年以降に卒業したグループ (n=66) で 9.1% と大学の卒業年度が近年であるほど% の高い傾向を示し、大学教育に院内感染の概念を盛り込むことが重要であることを明らかにした。

以上の結果から、出版物による自己研修では、研修効果が認められないことが明らかとなり、大学教育のように講義を受ける

卒後研修が院内感染対策の知識を植えつけさせるために有効であることが示唆された。

愛知県歯科医師会所属歯科医師を対象としたアンケート調査を用いて、卒業年度の質問項目を加えた詳細な分析を行った。その結果のまとめを下記に示す。

1) HIV 感染者・エイズ患者歯科治療受け入れや HIV 感染者歯科治療紹介受諾などの HIV 患者歯科治療に関して、卒業年数、ユニバーサルプレコーションに関する知識、HARRT に関する知識が強く相関していた。

2) 防護用めがね、マスク、グローブ着用や患者ごとのハンドピース交換などの院内感染対策の行動に関わる部分も、卒業年数、ユニバーサルプレコーションに関する知識、HARRT に関する知識が強く相関していた。

3) スタッフ教育、感染予防対策研修などの教育、情報の部分は、ユニバーサルプレコーションに関する知識、デンタルユニットのスリーウェイシリンジ中細菌に関する知識と相関していた。

4) HBV ワクチン接種は、卒業年数、HIV 感染に関する知識、HIV 感染者歯科治療紹介受諾と相関していた。

これらの結果を総合的に考察すると、ユニバーサルプレコーションに関する意識は大学教育のような講義により植えつけられ、卒業後の研修により向上および維持されること、それが歯科医療における院内感染対策の行動に結びつけられることが考えられる。また、すでに卒業した歯科医師に対する卒後研修が重要であることも示唆している。さらに大学教育や研修が、HIV 感染者に対する歯科治療の受け入れに反映していくことも示唆された。

「デンタルユニット内循環水における微生物の同定および評価システムの開発の研究結果と考察」

施設 A からのタービンからの水において従属細菌(20℃培養)34080CFU/ml が検出された。一方、水道水において従属細菌(20℃培養)1740CFU/ml が検出された。その他の病原性微生物は、検出することが出来なかった。施設 B からの水において、検出を行った上述の微生物は検出することが出来なかった。施設 C からの水道水において従属細菌(20℃培養)2080CFU/ml が検出され、スリーウェイシリンジからの水で従属細菌(42℃培養)540CFU/ml、水道水で従属細菌(42℃培養)20CFU/ml が検出された。その他のサンプルでは病原性微生物は、検出することが出来なかった。製造後使用開始してから12年以上経過している施設 A, B, C のデンタルユニットの水サンプルでは、一般細菌や緑膿菌、大腸菌などの病原細菌は検出できず、従属細菌だけが1部検出された。配管内バイオフィーム微生物は、大きく分けて細菌、真菌、原虫などであることがわかっている。これらの微生物の供給源は、水道水、歯科ユニット周囲の環境、ヒト口腔からの微生物、唾液や血液などが考えられている。具体的な微生物は、その大半が水中従属栄養細菌で、これらは正常な免疫応答をする能力のあるヒトには、病原性となる可能性はほとんどない。さらに口腔常在菌、ヒト病原菌(緑膿菌、レジオネラ菌類および非結核性抗酸菌類などが分離されている。とくにレジオネラは、エアロゾルに運ばれ感染を促していくのでタービンを使用する時は注意を払う必要がある。一方病原性微生物は検出された数例が示めされているだけでほとんど検出されない場合

も多く、また日本で検出された報告がない。しかし全身疾患を有するような易感染者に対して感染リスクが高くなることやスタンダードプレコーションの概念を考えれば、より安全を期するために歯科ユニットからの配水の微生物の多いことに対して認識を高め定期的な検査や微生物を減少させるための処置を考えていく必要がある。

#### 「バイオフィーム検査およびその検討の研究結果と考察」

①キャピラリーフローセルシステムにおいて緑膿菌の GFP 産生株に接種直後から薬剤を作用させて 3 日後に観察すると、FOM 単独では疎なバイオフィームを形成するものの、LVFX 単独・LVFX・FOM 併用ではバイオフィームの形成を認めなかった。AZM 単独の場合は薬剤無添加の場合と同様、いずれの薬剤濃度においても均一かつ密なバイオフィームを形成した。GFP 産生株が 1 日後に形成したバイオフィームに 72 時間薬剤を作用させると、LVFX 単独・FOM 単独では明らかな効果を認めなかったが、併用効果としてのバイオフィームの解離を認めた。GFP 非産生株が 2 日後に形成したバイオフィームに 18 時間薬剤を作用させると、LVFX 単独では死菌が浅層部で多く観察された。FOM 単独では生菌の分布が薬剤無添加と同程度に確認された。LVFX と FOM 併用では深層部まで死菌が観察され、併用効果が認められた。

②現在までに、19 種類のクランベリー代謝関連化合物について、大腸菌性バイオフィームに対する抑制効果を評価した。その結果、vanillic acid, homovanillic acid, 4-coumaric acid, ferulic acid, isoferulic acid が抑制効果を示すことを確認した。

以上の結果から

①キャピラリーフローセルシステムは、抗菌薬を含む抗バイオフィーム剤開発のための新しい実験・評価系になるものと考えられた。

②クランベリー代謝関連化合物が大腸菌性バイオフィームに対して抑制効果を発揮することが明らかとなり、それらの代謝物は口腔バイオフィームに対しても抑制効果を持つ可能性がある。

#### 「院内感染における監視体制の構築の研究結果と考察」

在宅療養患者が頻回に使用した気管内吸引カテーテルの細菌汚染状況を細菌学的・形態学的に検討した結果、*Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia* など、易感染患者への感染、つまり日和見感染・院内感染の原因菌である親水性のグラム陰性桿菌が多く分離されていた。これらの菌は口腔内に存在する可能性が高いため、医療依存度の高い入院患者および在宅療養患者に対して、効果的な口腔ケアを確立することにより、歯科医療における院内感染防止システムの構築にも寄与できると考えられた。

病院では気管内吸引は無菌操作で行い、吸引カテーテルは毎回新しい滅菌済みのものに換えて使用することが推奨されている。しかし在宅ケアでは、我々の実態調査でも示されたように、1~5 ヶ月間同じカテーテルを頻回再使用するケースがあった。本検討において、細菌の培養・同定のみでは、カテーテルへの細菌の付着状況を十分に把握できなかったため、走査型電子顕微鏡での形態学的観察を行った。その結果、付着菌・付着物・バイオフィーム形成菌を判別

することが可能であった。カテーテルの肉眼的汚染状況と付着菌・付着物の間に明らかな関連性を認めなかったため、走査型電子顕微鏡での観察は重要であると考えられた。

#### 「歯周診療における院内感染の検討の研究結果と考察」

易感染性状態にある造血幹細胞移植患者では、口腔内の細菌叢が変化し、それが口腔乾燥に関連することがわかった。乾燥防止ゲルは、痛みや不快感を軽減するだけでなく、細菌の増殖に抑制的に作用することが示唆された。

口腔ケア時には、相当数の口腔細菌が生菌のまま周囲に飛散することがわかった。飛びぬけて細菌数が多い場合があるので、塊として飛散することが示唆された。さらに、*mecA* を有する細菌も検出された。また、飛散した細菌の DGGE 解析像は口腔内のものに類似していた。さらに、*mecA* を有する細菌も検出された。なおリアルタイム PCR 法によって十分に検出されるが、相当な時間が必要であった。時間的に有利な細菌検出法である LAMP 法を用いようと試みたが、チェアサイドで用いるためにはキット化と簡易な恒温槽が必要であることがわかった。

以上の結果から、口腔内感染の予防や歯周病治療の際に、口腔内細菌叢や数をモニタすることは有用である。現存の培養法やリアルタイム PCR による 16SrRNA 遺伝子の増幅法によるモニタは、ほぼ完成されたと思われる。しかし、これも有効であるが、より迅速で簡便な方法が求められている。LAMP 法はその解決策の一つになるかもしれない。

#### 「全身疾患と院内感染との関与の研究結果と考察」

歯科治療後、チェア一駆動ボタンから採取した 40 サンプルのうち 2 サンプルからカンジダ属の菌を検出した。无影灯把持部から、日和見菌は検出されなかった。アルコール綿による清拭後はいずれの部位からも日和見菌は検出されなかった。

今回、40 例中 2 例の歯科治療後、チェア一駆動ボタンからカンジダ属の菌を培養法によって検出した。カンジダ菌が検出された 2 例はいずれも 2 型糖尿病患者であり、糖尿病患者は一般に易感染性宿主と捉えられていることから、日和見菌の保有菌量が多いものと考えられた。また、2 例中 1 例は義歯使用者であり、義歯表面でカンジダ菌が増殖していた可能性が考えられた。カンジダ属の菌は市中肺炎 (Community-acquired pneumonia) の起炎菌とは考えられてないものの、院内肺炎 (Hospital-acquired pneumonia: 「入院後 48 時間以上を経てから発症した肺炎であり、入院時すでに感染していた者を除いた肺炎」と定義されている) の起炎菌、すなわち日和見感染菌となり得ることが報告されている。したがって、高齢者や入院患者を診療する機会の多い、病院歯科では特に注意を払う必要がある。

また、アルコール綿による清拭後は菌が全く検出されなかったことから、いかなる状況においても清潔域と不潔域の区別が困難な境界領域の患者毎の清拭は必須と考えられた。

#### 「LAMP 法を用いた口腔細菌新検出法の確立に関する研究の検討の研究結果と考察」

LAMP 法に用いる鋳型 DNA は、未処理の菌体そのまま (PBS 懸濁液) あるいは

InstaGene Matrix (Bio-Rad)を用いての抽出したものあるいは菌体を boil (100°C、5分間) して調製したものを比較した。検出感度は InstaGene Matrix を用いて調整した DNA を鋳型とした場合が最も高く (1~10細胞/反応液)、その他 2 種類の調整方法での感度は InstaGene Matrix に比べて 2~10 倍低い結果となったが、簡便化した方法でも臨床検査には応用可能であった。供試した *P. gingivalis* を含め 7 菌種すべてから、設計したプライマーを用いた 60 分の等温反応によって、16S rRNA 遺伝子を特異的に効率よく増幅することができた。LAMP 法は PCR 法と同様にあるいはそれ以上に感度も特異性も高く、さらに定温で反応が行なえ、簡便であることから歯周病細菌だけでなく他の病原細菌検出法の開発が期待できる。

「歯学部学生や歯科衛生士学校生に対する院内感染防止対策に関する意識調査についての検討の研究結果と考察」

1) 歯学部 1、2 年生のうち 89 名 (80.2%) が口腔微生物学に特に関心があり、「口腔微生物と全疾患の関係」が現在もっとも学びたい領域 (37.7%) であった。また感染制御医師に対しては 89 名 (80.2%) の学生が関心のあることがわかった。

2) 歯科臨床実習中の歯学部 6 年生のうち 38 名 (67.9%) が ICD に関心があった。臨床歯系学など専門分野に関心のある学生は多かったが、その中でも 22 名 (39.3%) が実際に ICD の資格を取得したいと回答していた。

歯科医療従事者は診療中に唾液、血液に暴露され、多くの病原微生物 (HBV、HCV、HIV、結核、MRSA など) の感染のリスクに直面する。今回のアンケート調査を実施す

ることによって病原微生物や院内感染防止対策などに対する歯学部学生個人の意識を喚起することができた。

歯学部 1、2 年生さらには歯科臨床実習中の歯学部 6 年生も微生物学や感染防御などの専門知識と技術の修得に高い関心があることが明らかになった。感染防御に関する専門教育や ICD などの専門医制度などの周知を学部学生期から行なえる教育カリキュラムや体制の充実が重要であると考えられる。

#### D. 結論

「歯科診療における院内感染対策の意識調査とその分析」

院内感染対策の意識の向上は、講義を受ける研修に依存しているのが明らかとなり、それが HIV 感染者の歯科治療の受け入れといった行動に結びついていくことが考えられた。大学教育に院内感染対策を盛り込むことと卒後研修を行うシステムの構築が今後重要であることが示唆された。

「デンタルユニット内循環水における微生物の同定および評価システムの開発」

平成 16 年度に確立した歯科医院内デンタルユニット内循環水の微生物を検出同定する方法を用いて、実際に検討を行うと一部のサンプルにおいて従属細菌のみが検出された。今後サンプル採取施設を増やし検討を行う必要があることが示唆された。

「バイオフィーム検査およびその検討」

生体の細菌バイオフィームは医学・歯学各科領域の枠を超えて総合的に理解されるべき病態であり、バイオフィーム感染症に対する予防法・治療法の確立は重要な研究課題である。また、歯科医療における院内

感染防止対策において、デンタルユニットや歯科ウォーターラインなどの環境における細菌バイオフィームに対しても抗バイオフィーム剤の開発を行う必要がある。

キャピラリーフローシステムのような新しいバイオフィーム実験モデル系の開発と抗バイオフィーム剤の探索を継続することは口腔細菌バイオフィームが関与する院内感染を防止する上で重要である。

#### 「院内感染における監視体制の構築」

誤嚥性肺炎を発症して入院した在宅療養患者および脳神経系病棟に入院している患者の口腔・唾液の細菌検査ならびに使用頻度の高い吸引（口腔・鼻腔・気管内）カテーテルの細菌汚染状況の実態調査に際して、今年度までに確立した基礎技術を用いて細菌学的・形態学的な検討を行った。このような検討により、要介護者に対する効果的な口腔ケアを評価できるようになり、より院内感染の起こらない口腔ケア方法の確立に寄与することができる。本研究成果は、歯科医療における院内感染防止システムを構築する上での基盤研究となりえる。

「歯周診療における院内感染の検討」口腔内感染の予防や歯周病治療の際に、口腔内細菌叢や数をモニタすることを普及するため、LAMP法を実施できるように方法を改善する必要がある。

歯科治療後の通常の清掃によって、飛散した細菌を除菌できているか、このモニタ法を使用して検討していくことができた。このような研究は、院内感染防止システムを構築するためのツール開発に寄与すると考えられた。

#### 「全身疾患と院内感染との関与」

高齢者に対する歯科診療の機会の多い状況下では、口腔内の日和見感染菌が歯科用の機材を介して容易に患者から患者へと伝播する可能性が示唆された。今回、検出した *Candida* sp. は市中肺炎の原因とは考えられていないものの院内肺炎の病巣から分離されていることが報告されており、高齢者の多い診察室ではとりわけ患者毎のアルコール清拭が必須と考えられた。

「LAMP法を用いた口腔細菌新検出法のLAMP法はサーマルサイクラーなどの特別な機器を必要とせず、目視判定が可能なことや反応時間が短いことからチェアサイドでの歯科臨床細菌検査に有効に活用できる。

今後、このLAMP法を適用して薬剤耐性菌であるMRSAや日和見感染症の原因菌の検出法の開発に繋げ、歯科治療の際に飛び散った微生物の検出に応用していく。

「歯学部学生や歯科衛生士学校生に対する院内感染防止対策に関する意識調査について」

歯学部学生に対して微生物学や院内感染防止対策に関する意識調査を行ない、1、2年次から6年次まで病原微生物や感染防御対策さらには専門医であるICD制度についても関心度が高いことがわかった。

#### 研究成果発表

1. Senpuku H, Tada A, Kariyama R, Kumon H. Post-operative infection by pathogenic microorganisms in the oral cavity of patients with prostatic carcinoma. *Journal International Medical Research*. in press.
2. 小森康雄, 感染対策の実際; 歯科医院の

- ための感染対策実践ガイドライン, p24-98、監修小森康雄, デンタルダイヤモンド社, 2005年.
3. 小森康雄, ユニバーサルプリコーションとスタンダードプリコーション; 歯科医院のための感染対策実践ガイドライン, p102-105、監修小森康雄, デンタルダイヤモンド社, 2005年.
  4. 泉福英信, 歯科医療において重要な感染症の疫学と院内感染対策調査; 歯科医院のための感染対策実践ガイドライン, p130-136、監修小森康雄, デンタルダイヤモンド社, 2005年.
  5. Seno, Y., Kariyama, R., Mitsuhashi, R., Monden, K., Kumon, H. : Clinical implications of biofilm formation by *Enterococcus faecalis* in the urinary tract. *Acta Medica Okayama* 59(3): 79-87, 2005.
  6. Mikuniya, T., Kato, Y., Kariyama, R., Monden, K., Hikida, M., Kumon, H. : Synergistic effect of fosfomycin and fluoroquinolones against *Pseudomonas aeruginosa* growing in a biofilm. *Acta Medica Okayama* 59(5): 209-216, 2005.
  7. 狩山玲子、三國谷 雄、加藤佳久、疋田宗生、門田晃一、公文裕巳: 緑膿菌バイオフィルムに対するフルオロキノロン系薬とホスホマイシンの併用効果. 第39回緑膿菌感染症研究会講演記録 p.95-99, 2005.
  8. 狩山玲子、瀬野祐子、光畑律子、門田晃一、公文裕巳: 腸球菌性尿路バイオフィルム形成に関する検討. *Bacterial Adherence & Biofilm* 19: 60-65, 2005.
  9. Mineshiba J, Myokai F, Mineshiba F, Matsuura K, Nishimura F, Takashiba S. Transcriptional regulation of beta-defensin-2 by lipopolysaccharide in cultured human cervical carcinoma (HeLa) cells. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 45:37-44, 2005.
  10. Oyaizu K, Mineshiba F, Mineshiba J, Takaya H, Nishimura F, Tanimoto I, Arai H, Takashiba S. Periodontal treatment in severe aplastic anemia. *J Periodontol*, 76:1211-1216, 2005.
  11. Oyama M, Myokai F, Ohira T, Shiomi N, Yamashiro K, Arai H, Nishimura F, Takashiba S. Isolation and expression of FIP-2 in wounded pulp of the rat. *J Dent Res*, 84:842-847, 2005.
  12. Genco RJ, Grossi SG, Ho A, Nishimura F, Murayama Y. A proposed model linking inflammation to obesity, diabetes, and periodontal infections. *J Periodontol*, 76:2075-2084, 2005.
  13. 苔口 進、前田博史. 口腔微生物フローラと保健. *Food & Food Ingredients Journal* vol. 210, No. 4, p. 348-p. 360, 2005.
  14. 佐藤法仁、苔口 進、福井一博. 歯学部1、2年生における口腔微生物学に関する意識調査. *医学と生物学*, 第149巻、第12号、p. 444-448、2005.
  15. 佐藤法仁、苔口 進、福井一博. 歯学部臨床実習生における「感染制御医師」に対する意識調査. *医学と生物学*, 第149巻、第12号、p. 483-486、2005.

## II. 分担研究報告書



厚生労働科学研究費補助金（医療技術評価総合研究事業）  
分担研究報告書

「歯科医療における院内感染防止システムの開発」

「歯科診療における院内感染対策の意識調査とその分析」

分担研究者：小森康雄（東京医科大学・口腔外科学講座・講師）

主任研究者：泉福英信（国立感染症研究所・細菌第一部・室長）

協力研究者：米沢英雄（国立感染症研究所・細菌第一部・協力研究員）

研究要旨：神奈川県および愛知県に所属する歯科医師 3912 人および 3271 人に対し院内感染対策の意識および現状を把握する目的でアンケート調査を実施した。742 人および 2018 人から回答がありその分析を行った。結果、ユニバーサルプリコーシヨンの理解率が卒後研修を受けたグループが受けてないグループよりも高いことが明らかとなった。一方、出版物による自己研修では、その研修効果が認められないことが明らかとなった。さらに大学の卒業年度が近年であるほどユニバーサルプリコーシヨンの理解率や院内感染に対する知識が高くなる傾向を示し、大学教育に院内感染の概念を盛り込むことが重要であることを明らかにした。これらの結果を総合的に考察すると、ユニバーサルプリコーシヨに関する意識は大学教育のような講義による研修により向上すること、それが院内感染対策の行動に結びつくことが考えられる。また、すでに卒業した歯科医師に対する卒後研修が重要であることも示唆している。これらが、HIV 感染者に対する歯科治療の受け入れ行動に反映していくと考えられた。

A. 目的：

歯科医療を行うにあたって、その安全性の確保は最も重要な課題であるが、院内感染リスクは未だ減少しておらず、その監視体制の整備が望まれている。近年では、鳥インフルエンザや SARS などの新規感染症が起こり HIV 感染者の急増などからも、歯科医療において院内感染を限りなく防ぐための研究を行う必要がある。特に、わが国は先進国の中では唯一、新たに発見される HIV 感染者/AIDS 患者が増加の一途をたど

っている。これらの患者が歯科を受診する可能性は極めて高く、HIV 感染症を有している患者を医療機関側が知らずに治療していることは十分想像できる。HIV 感染患者の歯科治療は好むと好まざるとにかかわらず避けては通れないのが現状である。このように、歯科医院における院内汚染が危惧されているにもかかわらず、現実には歯科医院内における院内感染防止において病原性微生物に特化した監視体制は整備されていない。

平成 16 年度の本研究班の研究成果では、神奈川県および埼玉県歯科医師会に所属する歯科医師 4047 人に対し院内感染対策の意識および現状を把握する目的でアンケート調査を実施した。803 人から回答があり、その結果、院内感染対策の基本であるユニバーサルプレコーションを理解している割合が約 10%と低く、また防護用メガネ、マスク、グローブの全てを着用して診療している割合がいずれも約 37%と低いことが明らかとなり、現状の歯科医療における院内感染に対する意識が低いことを示した。また、歯科医療において発生する飛沫や歯科用ユニットからの配水に微生物が含まれている点については、微生物の汚染の可能性を約 70%の歯科医師が認識しているにもかかわらず、的確な対策が取られていないことも明らかとなった。研修会への参加は院内感染対策の認識を高くさせる傾向が認められ、卒後研修システムの構築が必要であることも明らかにした。

しかし一方、これらの感染者を受け入れる歯科医療体制は必ずしも整備されてはならず、そのため患者が診療拒否や差別を受けたり、逆に感染者が感染の事実を隠して受診しているのが現状である。これは医療機関にとっても患者にとっても決して好ましいことではなく、お互いが理解し合い正しい情報の元に医療行為が行われることが望ましいことは言うまでもない。

平成 17 年度は、このアンケート調査(別紙 1)をさらに愛知県歯科医師会所属歯科医師にも行い、大学教育との関連性を検討する目的で卒業年度の質問項目を加え、意識と知識と行動がどのように関連してくるかについて詳細に分析を行った。

## B. 調査対象

1) 神奈川県歯科医師会所属 3912 人を対象にアンケート調査を行い、有効回答のあった 742 人(19%)のアンケート結果を分析対象とした。院内感染に対する意識および知識に関する質問(別紙 1)を行い、得られた回答から割合を算出した。また卒後研修を受けたグループと受けないグループか出版物による自己研修をしたグループとしないグループに分け、それぞれの質問項目におけるグループ間の差を算出し、それぞれの研修の効果について検討を行った。

2) 愛知県歯科医師会所属 3271 人を対象にアンケート調査を行い、有効回答のあった 2018 人(61.7%)のアンケート結果を分析対象とした。院内感染に対する意識および知識に関する質問(別紙 1)を行い、得られた回答から割合を算出した。卒業年度の違いで、昭和 40 年以前に卒業したグループ、昭和 41 年～50 年に卒業したグループで、昭和 51 年～60 年に卒業したグループ、昭和 61 年～平成 7 年に卒業したグループ、平成 8 年以降に卒業したグループに分けて質問を加え、それぞれの質問との関連性を重回帰分析を用いて検討を行った。

3) 神奈川県 HIV 歯科診療体制検討委員会を設置し、本研究班の分担研究者である小森康雄を委員長とし、主任研究者である泉福英信は、委員として参加した。

活動； 1) 院内感染対策のマニュアルの作成し神奈川県歯科医師会所属歯科医師に配布した。

2) ネットワークの構築 HIV 陽性患者の歯科医療を受け入れる一次、二次、三次医療機関の選定してネットワークを構築した。

3) 研修会および実習、主任研究者の泉福英信、分担研究者の小森康雄が参加し、院内感染対策の研修会を開催した。その後、院内感染対策の実習も行った。

### C. 結果

1) 神奈川県歯科医師会に所属する歯科医師を対象としたアンケート調査を用いた分析。

卒後研修を受けたグループと受けないグループに分けて、「ユニバーサルプレコーション」とは何か知っていますか」という質問をすると、卒後研修を受けたグループで17.5%の人が理解しているという回答をした(図1)。一方、卒後研修を受けていないグループでは5.7%の人が理解しているという回答をし、卒後研修を受けたグループよりも低い値となった。また、自己研修(出版物の利用)をしたグループとしてないグループに分けて、「ユニバーサルプレコーション」とは何か知っていますか」という質問をすると、自己研修をしたグループで8.3%の人が理解しているという回答をした(図2)。一方、自己研修をしてないグループでは8.2%の人が理解しているという回答をし、自己研修をしたグループと同程度となった。出版物などを利用した自己研修では全く効果がないが研修会への参加は院内感染対策の認識を高くさせる傾向が認められた。

2) 愛知県歯科医師会所属歯科医師を対象

### としたアンケート調査の分析

a) 研修と院内感染対策との関係について

愛知県歯科医師会に所属する歯科医師3271人に対して大学の卒業年度の違いの質問を盛り込みアンケート調査を行った。2018人から回答があり、61.7%と非常に高い回収率を示した。卒業年度を5つのグループに分け検討を行うと、すべてのグループにおいてユニバーサルプレコーションの理解率が10%以下であったが、昭和40年以前に卒業したグループ(n=118)で5.1%、昭和41年~50年に卒業したグループ(n=474)で3.6%、昭和51年~60年に卒業したグループ(n=829)で5.4%、昭和61年~平成7年に卒業したグループ(n=451)で8.3%、平成8年以降に卒業したグループ(n=66)で9.1%と大学の卒業年度が近年であるほど%の高い傾向を示し(表1)、大学教育に院内感染の概念を盛り込むことが重要であることを明らかにした。

b) 院内感染防止行動や HIV 感染者歯科治療についての意識と関連する因子の解析

(分析方法) 重回帰分析

(分析結果)

1 目的変数: HIV 感染者・エイズ患者歯科治療受け入れ

説明変数: 卒業年数、ユニバーサルプレコーションに関する知識、SARS 感染に関する知識、飛沫距離に関する知識、HIV 感染に関する知識、HARRT に関する知識、デンタルユニットのスリーウェイシリンジ中細菌に関する知識

(以下説明変数は同じ)

選択された変数 :

- 卒業年数 (p=0.000)
- ユニバーサルプレコーションに関する知識 (p=0.000)
- HARRT に関する知識 (p=0.004)

2 目的変数 : HIV 感染者歯科治療紹介受諾

選択された変数 :

- 卒業年数 (p=0.000)
- ユニバーサルプレコーションに関する知識 (p=0.000)
- HARRT に関する知識 (p=0.000)

3 目的変数 : 防護用めがね、マスク、グローブ着用

説明変数 : 卒業年数、ユニバーサルプレコーションに関する知識、SARS 感染に関する知識、飛沫距離に関する知識、HIV 感染に関する知識、HARRT に関する知識、デンタルユニットのスリーウエイシリンジ中細菌に関する知識、HIV 感染者・エイズ患者歯科治療受け入れ、HIV 感染者歯科治療紹介受諾

(以下説明変数は同じ)

選択された変数 :

- 卒業年数 (p=0.000)
- ユニバーサルプレコーションに関する知識 (p=0.046)
- HARRT に関する知識 (p=0.005)

4 目的変数 : 患者ごとのハンドピース交換

選択された変数 :

- 卒業年数 (p=0.000)
- ユニバーサルプレコーションに関する知識 (p=0.000)
- HARRT に関する知識 (p=0.004)
- SARS 感染に関する知識 (p=0.036)
- デンタルユニットのスリーウエイシリンジ中細菌に関する知識 (p=0.000)
- HIV 感染者歯科治療紹介受諾 (p=0.004)

5 目的変数 : スタッフ教育

選択された変数 :

- 卒業年数 (p=0.000)
- ユニバーサルプレコーションに関する知識 (p=0.001)
- デンタルユニットのスリーウエイシリンジ中細菌に関する知識 (p=0.000)
- HIV 感染者歯科治療紹介受諾 (p=0.000)

6 目的変数 : 感染予防対策研修

選択された変数 :

- ユニバーサルプレコーションに関する知識 (p=0.001)
- デンタルユニットのスリーウエイシリンジ中細菌に関する知識 (p=0.000)
- HARRT に関する知識 (p=0.046)

7 目的変数 : HBV ワクチン接種

選択された変数 :

- 卒業年数 (p=0.000)
- HIV 感染に関する知識 (p=0.004)
- HIV 感染者歯科治療紹介受諾 (p=0.017)