

7. 形山優子、山本満寿美、千田好子、狩山玲子「治療目的で急性期病院に入院した誤嚥性肺炎患者の口腔および吸引痰から検出された日和見感染菌」、第22回日本環境感染学会総会：横浜2007, 2.23-24。
8. 林由佳、千田好子、犬飼昌子、狩山玲子、光畑律子、「再使用する気管内吸引カテーテルの洗浄および保管方法に関する検討」、第22回日本環境感染学会総会：横浜2007, 2.23-24
9. 小出康史、前田博史、村内利光、谷本一郎、苔口進、西村英紀、高柴正悟：等温遺伝子増幅法（LAMP法）によるメチシリン耐性遺伝子（*mecA*）および黄色ブドウ球菌特異的遺伝子（*spa*）の迅速検出。日本歯科保存学会秋期学術大会，2006，11，10，鹿児島。
10. 曾我賢彦、岩本義博、谷本一郎、目黒道生、工藤直英子、吉澤さゆり、山部こころ、園井教裕、岩田宏隆、岡田祐佳、富山高史、新井英雄、西村英紀、高柴正悟：造血器腫瘍を中心とした血液疾患患者における歯周病の重症度と *Porphyromonas gingivalis* に対する血清 IgG 抗体価との関連性に関する研究。第49回秋季日本歯周病学会学術大会，2006，10，20，
11. 藤本千代、前田博史、谷本一郎、妹尾京子、大谷久美、前田知子、金中章江、長島義之、高柴正悟：口腔ケア時における口腔内細菌の飛散状況。第20回日本顎頭蓋機能学会記念学術大会，2006，9，23，岡山。
12. 杉浦裕子、曾我義彦、高橋郁名代、黒明安子、河野古都絵、高柴正悟：造血幹細胞移植中に口腔粘膜上から検出される細菌種に対応する口腔内保湿ジェルの抗菌性の検討。第20回日本顎頭蓋機能学会記念学術大会，2006，9，23，岡山。

II. 分担研究報告

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：神奈川県に所属する歯科医師 3873 人に対し院内感染対策の意識、知識、行動についてアンケート調査を実施した。392 人から回答がありその分析を行った。結果、60 才以上の歯科医師は院内感染に対する意識と行動が他の年代よりも大きく欠け、HIV 患者の受け入れ意識は 39 才以下の歯科医師で高く、院内感染対策の行動にも反映していることが示唆された。来院患者数が多く口腔外科を標榜する歯科医院ほど院内感染対策に対する意識が高いことも明らかになった。院内感染対策を歯科医療に導入していくためには、歯科医院の経営を充実することと同じように意欲を持ち、若い年齢の時から積極的に口腔外科的な治療を行うような専門性を高めて行き、手間を惜しまずに院内感染対策を導入して行くことが、評判の良い歯科医院に発展させて行くことになると考えられる。患者は、院内感染に対する姿勢を見て来院行動につながっているのかもしれない。また、すでに卒業した 40 才以上の歯科医師に対しての再教育が重要であることも明らかとなった。これらが、院内感染対策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 17 年度の本研究班の研究成果では、
1) 大学卒業年度が近年であればあるほどユニバーサルプレコーションの意識が高いことが明らかとなった。

2) 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。

3) 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。

4) 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。

平成 18 年度は、このアンケート調査（別紙 1）の質問項目を意識、知識、行動に絞込み、そこに年齢、1 日の患者人数、標榜科の質問項目を入れ、それぞれの質問項目に対する関連性を検討した。

B. 調査対象及び解析方法

神奈川県歯科医師会所属 3873 人を対象にアンケート調査を行った。392 人から回答があり、10.1%と低い回収率を示した。

1) 年齢を 39 才以下、40～49 才、50～59 才、60 才以上のグループに分け、それぞれの質問項目に対する回答の割合を算出した。
2) 1 日に来院する患者数から、15 人以下、16～25 人、26～35 人、36～45 人、46 人以上の 5 つグループに分け、それぞれの質問

項目に対する回答の割合を算出した。

3) 一般歯科、小児歯科、口腔外科、矯正歯科を標榜するグループを分け、それぞれの質問項目に対する回答の割合を算出した。

C. 結果

1) 年齢と院内感染対策との関係

HIV 患者の治療を拒否することはよくないと考えている医師はそれぞれの年代で約 60%以上と高いにも関わらず、自分の歯科医院で HIV 患者を受け入れる医師は 60 才以上で 4.4%と低く、39 才以下 (41.7%) の約 1/10 であった (表 1)。一方で、HIV 患者を治療すると他の患者が来なくなると考えている医師が、反対に 60 才以上 (76.1%) で 39 才以下 (54.2%) よりも高く、60 才以上の多くの歯科医師は他の患者への風評の理由で自院において HIV 患者を治療したくないと考えている事が明かとなった。スタンダードプリコーションなどの知識の部分は、各年代において有意な差が認められなかった。

患者の有する感染症を知るため患者に問診票へ記載してもらう医師の割合は、60 才以上 (44.8%) が 60 才未満 (70%以上) よりも有意に低く、逆に何もしないと答えた医師は、60 才以上で 15.4%と他 (4%以下) よりも飛び抜けて高い割合となった (表 2)。グローブの着用、ハンドピースの交換、スタッフへの教育、感染防止マニュアルの作成など行動に関わる部分は、いずれも 60 才以上と以下で大きな差が認められ、いずれも 60 才以上で低率を示していた。

まとめると、60 以上の歯科医師は院内感染に対する意識と行動が他の年代よりも大きく欠けていることが示唆された。また、HIV 患者の受け入れ意識は 39 才以下の歯科

医師で高く、院内感染対策の行動にも反映していることが示唆された。

2) 1 日に来院する患者数と院内感染対策との関係

自院で HIV 患者を受け入れる医師および他院なら HIV 患者の治療を行う医師の割合は、来院患者の増加とともに増加する傾向が認められた(表3)。HIV 患者を拒否する事はよくないと考える医師(64~89%)や HIV 患者を治療すると他の患者が来なくなると考える医師(65~70%)は、来院患者数の違いに影響を受けなかった。来院患者数が多いということは忙しい反面収入も多いことが考えられる。来院数の違いが知識の部分に影響を与えることはなかった。

問診票から患者の感染情報を得ることは、15 人以下の来院患者数の医師で 33.8% (他のグループは 70%以上)と極端に低く、一方問診による患者の感染情報を得ることは、15 人以下の来院患者数の医師で 61.5%と他のグループよりも高くなっていた(表4)。グローブの着用、スタッフへの感染防止の教育、感染防止マニュアルの作成など、来院患者数が増加する程有意に高くなる傾向を示した。微生物検査、患者ごとのハンドピースの交換、研修会への参加など費用のかかる項目に関して、患者数の増加との関係性が見られなかった。以上の結果より、収入が多いことから経済的な余裕も生まれ結果として感染対策ができるようになったわけではなく、手間がかかったとしても患者数の多い歯科医院の方が感染対策をより行う意欲のあることが考えられる。手間を惜しみ無く感染対策に力を注ぐ歯科医院が患者との信頼関係を生み、結果的に来院患

者数の増加つながっているのではないかと考える。現に、15 人以下の歯科医院では、問診票に記載よりも手間のかからない問診により患者の感染情報を得ている医師が多く、また問診も何もしないという医師が多いことからわかる。

3) 標榜科と院内感染対策との関係

口腔外科を標榜している歯科医師で、自院での HIV 患者の受け入れる、他医院での HIV 患者を治療する、HIV 患者を拒否することはよくないことだと思う医師の割合が標榜していない医師よりも有意に高いことが明かとなった(図5)。またスタンダードプリコーションや HIV の治療方法である HAART 療法などの知識を有する医師の割合も高く、行動に関わる多くの質問項目においても有意に高い率を示していた(表6)。他の標榜科ではこのような差のある結果を得ることができなかった。これらは、大学あるいは口腔外科のある病院において専門的に口腔外科を学んだ歯科医師が、院内感染対策に対する意識や知識が高く、行動にも反映していると考えられる。

D. 結果のまとめと考察

1. 60 才以上の歯科医師は院内感染に対する意識と行動が他の年代よりも大きく欠けていることが示唆された。また、HIV 患者の受け入れ意識は 39 才以下の歯科医師で高く、院内感染対策の行動にも反映していることが示唆された。

2. 来院患者数が多い歯科医院ほど院内感染対策に対する意識が高いことが明らかになった。来院患者が多いということは忙しい反面収入の多いことが考えられ、経済的

な余裕が院内感染対策の意識に反映されると考えられた。しかし、院内感染対策のお金のかかる部分は来院患者数と相関しておらず、お金はあまりかからないが手間のかかる部分に関して相関が認められた。このことは、経済的な余裕が生まれた結果として感染対策ができるようになったわけではないと考えられた。手間を惜しみ無く感染対策に力を注ぐ歯科医院が患者との信頼関係を生み、結果的に来院患者数の増加につながるかもしれない。

3. 大学あるいは口腔外科のある病院において専門的に口腔外科を学んだ歯科医師が、院内感染対策に対する意識や知識が高く、行動にも反映していた。

院内感染対策を歯科医療に導入していくためには、歯科医院の経営を充実することと同じように、意欲をもつことが大事ではないだろうか。若い年齢の時から積極的に口腔外科的な治療を行うような専門性を高めて行き、手間を惜しまずに院内感染対策を導入して行くことが、評判の良い歯科医院に発展させて行くことにつながると考える。患者は、むしろ院内感染に対する姿勢を見て来院行動につながっているのかもしれない。

これらの結果から、大学教育、研修医、すでに卒業した歯科医師とくに 40 才以上の歯科医師に対しての再教育が重要であることも明らかとなった。なかでも口腔外科の標榜が、院内感染対策の受け入れ行動に反映していくと考えられた。

E. 結論

院内感染対策を歯科医療に導入していくためには、歯科医院の経営を充実することと同じように、意欲をもつことが大事であろう。若い年齢の時から積極的に口腔外科的な治療を行うような専門性を高めて行き、手間を惜しまずに院内感染対策を導入して行くことが、評判の良い歯科医院に発展させて行くことにつながる。

F. 研究成果発表

論文発表

1. Salam MA, Tada A, Yonezawa H, Watanabe H, and Senpuku H. Human T-cell responses to oral streptococci in human PBMC-NOD/SCID mice. *Oral Microbiol Immunol*. 21:169-176. 2006.
2. Tada A, Senpuku H, Motozawa A, Hanada N, and Tanzawa H. Association between commensal bacteria and opportunistic pathogens in the dental plaque of elderly individuals. *Clin Microbiol Infect*. 12: 776-781. 2006.
3. Motegi M, Takagi Y, Yonezawa H, Hanada N, Terajima J, Watanabe H and Senpuku H. Assessment of Genes Associated with *Streptococcus mutans* Biofilm Morphology. *Appl Environ Microbiol*. 72: 6277-6287. 2006.
4. Saotome Y, Tada A, Hanada N, Yoshihara A, Uematsu H, Miyazaki H and Senpuku H. Relationships of cariogenic bacteria levels with periodontal status and root surface caries in elderly Japanese. *Gerodontology*. 23: 219-225. 2006.

5. Maeda T, Kitasako Y, Senpuku H, Burrow MF, and Tagami J. Role of oral streptococci in the pH-dependent carious dentin. J. Med. Dent. Sci. 53: 159-166. 2006.
6. Senpuku H, Tada A, Nakao R, Yonezawa H, Yoneda S, Yoshihara A and Miyazaki H. Relationships of anti-PAc (361-386) peptide salivary IgA antibody, eosinophils, and basophils with periodontal status in elderly. FEMS Immunol Med Microbiol. 49: 84-90. 2007.
7. 泉福英信、インプラント対応型「清掃空間」とは？アポロニア 8: 66-69. 2006.
8. 泉福英信、歯科ユニットのバイオフィルム、化学療法の領域、22: 26-30. 2006.
9. 泉福英信、米田早織、抗ウイルス薬、歯科におけるくすりの使い方、p. 78-79、監修佐々木次郎、東理十三雄、デンタルダイヤモンド社、2006年.
10. 泉福英信、感染症対策はどこまでやればよいか？日本歯科評論、771: 13-15. 2007.
11. 泉福英信、歯科医療に関わる全身感染症の最近の動向、日本歯科評論、773: 123-128. 2007.
12. 泉福英信、歯科医療機関における院内感染対策の導入について、774: . 2007.

学会発表

1. 泉福英信、多田章夫、小森康雄、歯科医療における院内感染対策の意識向上と行動について、第55回口腔衛生学会総会、大阪、10月6日~10月8日、2006. 56: 56(0-21).

G. 知的財産権の出願・登録状況
該当なし

表1 年齢と院内感染対策に対する意識、知識との関係

	年齢					P
	<39	40-49	50-59	60<		
意識						
カテゴリー						
自分の歯科医院でHIV患者を受け入れます。	41.7%	24.5	19.7	4.4	<0.001	
他の医院ならHIV患者の治療を行います。	41.7	35.3	27.0	23.9	0.167	
HIV患者を拒否するのはよくないことだと思う。	70.8	69.1	70.3	58.2	0.403	
HIV患者を治療すると他の患者が来なくなってしまう。	54.2	60.7	76.1	76.1	0.008	
知識						
スタンダードプリコーション(ユニバーサルプリコーション)を知っていますか？	16.7	24.8	24.1	10.4	0.211	
血液の混じった唾液はHIVの感染源になると思いますか？	83.3	85.8	79.3	74.6	0.259	
HAART療法を知っていますか？	12.5	12.0	11.0	4.4	0.379	

表2 年齢と院内感染対策に対する行動との関係

年齢

	<39	40-49	50-59	60	P
行動					
患者の有する感染症を知るためにどのような対応していますか？					
問診表に記載してもらおう。	Yes 87.5	80.3	71.9	47.8	0.000
問診で聴取する。	Yes 41.7	50	46.6	55.4	0.551
微生物検査を行う。	Yes 8.3	5.6	2.7	0	0.121
特に何もしない。	0	0.7	3.4	15.4	0.000
治療を行うときの感染対策					
防護用メガネを着用しますか？	Yes 45.5	38.2	41.2	23.4	0.078
マスクを着用しますか？	Yes 100	97.8	97.1	92.3	
グローブを着用しますか？	Yes 81.8	80.1	58.7	39.1	0.000
患者さんごとにハンドピースを交換しますか？	Yes 27.3	27.9	26.8	9.2	0.000
スタッフに感染防止の教育を行いますか？	Yes 95.5	83.0	76.8	64.5	0.006
自院で感染防止マニュアルを作成しますか？	Yes 13.6	28.1	21.2	7.9	0.010
研修会に参加しますか。	Yes 31.8	50.3	60.3	42.9	0.016
HBVワクチンを接種したことが7ありますか？	Yes 95.5	80.7	76.8	60.0	0.001
スタッフはHBVワクチンを接種してますか？	Yes 54.5	36.6	36.8	36.1	0.417

表3 1日に来院する患者数と院内感染対策に対する意識、知識との関係

1日に来院する患者さんの人数

		<15	16- 25	26- 35	36- 45	46<	p
意識	カテゴリー						
自分の歯科医院でHIV患者を受け入れます。	Agree	19.2	14.2	25.6	23.5	37.0	0.049
他の医院ならHIV患者の治療を行います。	Agree	25	26.3	23.6	39.4	51.9	0.039
HIV患者を拒否するのはよくないことだと思います。	Agree	64.1	66.4	66.7	71.4	88.5	0.202
HIV患者を治療すると他の患者が来なくなると思います。	Agree	70.1	70	67.9	65.7	70.3	0.987
知識							
スタンダードプリコーション(ユニバーサルプリコーション)を知っていますか？	Yes	20.3	19.1	16.4	32.3	29.6	0.365
血液の混じった唾液はHIVの感染源になると思っていますか？	Yes	76.9	85	83.3	74.3	81.5	0.461
HAART療法を知っていますか？	Yes	10.1	8.5	7.6	8.6	14.8	0.833

1日に来院する患者数

表4 1日に来院する患者数と院内感染対策に対する行動との関係

		<15	16-25	26-35	36-45	46<	p
	カテゴ リー						
行動							
患者の有する感染症を知るためにどのような対応して いますか？							
問診表に記載してもらおう。	Yes	33.8	71.6	77.2	85.2	85.2	0.001
問診で聴取する。	Yes	61.5	47.5	57.0	37.1	37.0	0.039
微生物検査を行う。	Yes	1.3	3.5	5.1	2.9	3.7	0.771
何もしない。	Yes	9.0	5.0	0	2.9	0	0.050
治療を行うときの感染対策							
防護用メガネを着用しますか？	Yes	18.2	35.5	39.2	45.7	55.6	0.091
マスクを着用しますか？	Yes	93.7	97.9	98.7	97.6	92.6	
グローブを着用しますか？	Yes	55.1	59.4	74.7	80.0	74.1	0.011
患者さんごとにハンドピースを交換しますか？	Yes	24.1	22.4	20.3	37.1	39.6	0.336
スタッフに感染防止の教育を行いますか？	Yes	67.9	77.9	81.0	85.7	96.3	0.020
自院で感染防止マニュアルを作成しますか？	Yes	19.7	13.3	22.8	28.6	48.1	0.001
研修会に参加しますか。	Yes	48.1	52.4	50.0	60.0	55.6	0.799
HBVワクチンを接種したことがありますか？	Yes	68.3	77.6	78.2	82.9	85.2	0.278
スタッフはHBVワクチンを接種していますか？	Yes	28.8	29.3	42.3	66.7	55.6	0.000

表5 口腔外科の標榜と院内感染対策に対する意識、知識との関係

		口腔外科 標榜	口腔外科 を標榜し ない	P
	カテゴリー			
意識				
	自分の歯科医院でHIV患者を受け入れます。	agree 37.5	16.9	<0.001
	他の医院ならHIV患者の治療を行います。	agree 45.2	27.7	0.006
	HIV患者を拒否するのはよくないことだと思う。	agree 82.5	64.7	0.003
	HIV患者を治療すると他の患者が来なくなってしまうと思う。	agree 70.3	68.3	0.443
知識				
	スタンダードプリコーション(ユニバーサルプリコーション)を知っていますか？	Yes 31.7	19.0	0.073
	血液の混じった唾液はHIVの感染源になると思っていますか？	Yes 82.3	81.2	0.504
	HAART療法を知っていますか？	Yes 19.0	8.2	0.012

表6 口腔外科の標榜と院内感染対策に対する行動との関係

	口腔外科 標榜	口腔外科を標 榜しない	P
行動			
患者の有する感染症を知るためにどのように対応していますか？			
問診表に記載してもらう。	74.6	70.8	0.328
問診で聴取する。	66.7	47.6	0.004
微生物検査を行う。	9.5	2.9	0.025
特に何もしない。	0	5.1	0.051
治療を行うときの感染対策			
防護用メガネを着用しますか？	47.5	36.0	0.046
マスクを着用しますか？	100	96.0	
グローブを着用しますか？	80.3	61.9	0.004
患者さんごとにハンドピースを交換しますか？	34.4	22.3	0.035
スタッフに感染防止の教育を行いますか？	90.0	75.8	0.008
自院で感染防止マニュアルを作成しますか？	32.8	18.2	0.011
研修会に参加しますか。	58.3	51.0	0.186
HBVワクチンを接種したことが7ありますか？	78.3	76.0	0.698
スタッフはHBVワクチンを接種していますか？	45.0	36.2	0.129

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」

「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」

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）

協力研究者：中島仁一（東京医科大学・霞ヶ浦病院）

協力研究者：山崎利雄（国立感染症研究所・細菌第一部）

協力研究者：八木田健司（国立感染症研究所・寄生動物部）

研究要旨：デンタルユニットの歯科用ハンドピース、超音波スケーラー、エアーシリンジからの排水サンプルを採取しての、一般細菌、従属細菌、緑膿菌、大腸菌、レジオネラ、黄色ブドウ球菌、非結核性非定型抗酸菌、原虫の測定を行った。平成 18 年度は、平成 17 年度に行った一般歯科医院 3 施設(A, B, C)からさらに 5 施設(D, E, F, G, H)を増やして、検討を行った。その結果、一般細菌や緑膿菌、大腸菌、抗酸菌などはまた検出されず、従属細菌が 1×10^6 CFU/ml 以上スリーウェイシリンジとタービンから検出された。このデンタルユニットはいずれも製造および使用を開始してから 15 年以上経過していた。一方、製造および使用を開始してから 1 年以内のデンタルユニットでは、従属細菌も検出されなかった。デンタルユニット内排水の残留塩素量の検討を行うとホースの使用年数が 5 年以上のユニットにおいて、残留塩素が検出限界以下であった。使用を開始してから 5 年以上経過したデンタルユニットは、排水の微生物汚染状況と残留塩素検査を行い、結果に応じてホースの交換を含めたデンタルユニット内微生物汚染の改善が必要であると考えられた。

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、抗生物質に耐性あるいは低感受性細菌や日和見菌のような弱毒菌による口腔内での集団

出現や SARS のような新規ウイルスの唾液を介する伝播などが起り、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。

院内の環境や歯科用材料・器具・医療機器に形成される細菌バイオフィームは消毒薬に抵抗性を示し、そのことが院内感染の

要因になる可能性が高い。院内におけるバイオフィーム形成菌は、外因的ないし内因的要因により供給される。

外因的要因として、緑膿菌、レジオネラ、非結核性非定型抗酸菌などのヒトに対して病原性のある菌が歯科用ユニットの配管内にバイオフィームをつくり、そこを通過した配水により歯科医療従事者が慢性的にレジオネラに暴露され死亡した例が報告されている。

そこで、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。

B. 調査方法

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 500 mL それぞれ 2 本ずつ採取する。採水に際して種類、採水部位、日時、型式、水温、pH 値、残留塩素濃度などの記録を必ずつける。

・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（チオ硫酸ナトリウムを添加した状態でオートクレーブして

瓶を準備しておいてよい）、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。

(1) 冷却遠心濃縮法：検体の汚濁が激しい場合にはこの方法が優れている。

滅菌した蓋付きの遠心管に検水 200 mL を入れ、バランスを取った後 6,000 g、10 分間（たとえば 20℃で）遠心する。静かに上清を除き、2 mL（100 倍濃縮）の滅菌蒸留水を加えて管内壁をよく洗い、沈渣を懸濁する（この遠心法は、ISO11731 で規定され、WHO のレジオネラ分離法にも採用されている。ちなみに 300-500 ml の容器を使用して遠心するとされている）。

・濃縮検体（下記の 2 mL）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) 検体処理

(a) 熱処理法

50℃で 20 分間加熱する。

(b) アルカリ処理

①等量の 4%NaOH を加えて Vortex mixer で攪拌する。

②室温で 20 分間処理する。

③その間時々震盪・攪拌する。

・非処理濃縮検体の浮遊液の 1 白金耳（約 20 μL）で塗抹標本を作る。→Z-N 染色（抗

酸菌用)

・非濃縮検体は選択培地に未処理のもの 100 μ L、加熱処理したものを 100 μ L 塗布する。その際、適宜 10 倍希釈で 2~3 段階希釈し、それぞれ 100 μ L 塗布しておくこと菌数の算定がし易い。雑菌汚染がひどいと考えられる検体では熱処理後さらに低 pH 処理する。

2. レジオネラ属菌について

(1) 培養

ビオメリュー社の GVPC プレートに接種（アクアス、静岡県環境衛生科学研で使用。36 \pm 1 $^{\circ}$ Cで 10 日まで培養する。2、3 日ごとに観察する。

(2) 確認培養

レジオネラ様のコロニーを血液寒天プレートで確認培養。

(3) 同定

長波紫外線による自発蛍光をみる。

自発蛍光がないなら、

デンカ生研のレジオネラ免疫血清 7 種 (Lp1-6, micdadei) でスライド凝集反応。

自発蛍光があるなら、

デンカ生研のレジオネラ免疫血清 3 種 (bozemanii, gormanii, dumoffii) でスライド凝集反応。

スライド凝集反応陰性（あるいは弱い反応）のものについて、

1) PCR により mip, 5SrRNA を増幅して *L. pneumophila* かその他のレジオネラ属菌かの確認。ここで OXOID のラテックス凝集反応 (Lp2-14、他のレジオネラ属菌 7 種) をしてもよい。

2) 1) で mip 陰性の菌について、極東 DDH で種の同定。

3) 1) で mip 陽性の菌についてデンカ生研

のレジオネラ免疫血清 9 種 (Lp7-15)

4) 2) 及び 3) で陰性の菌について、16SrRNA の配列決定による同定。

3. 抗酸菌について

(1) 培養

上記処理検体 0.1 mL ずつを 2~3 本の 2% 小川培地（極東製薬工業）に接種後 36 \pm 1 $^{\circ}$ C で 8 週間まで培養する。コロニーを計数する。約 1 週間でコロニーの検出できる菌種とそれ以降にコロニーの見られる菌種がある。

(2) 分離菌の純化

滅菌精製水にて分離菌の微濁浮遊液を 10 倍希釈系列で希釈し、それぞれ 0.1 mL ずつ Middlebrook 7H10 寒天培地に接種し、5% CO₂ フランキ内 36 \pm 1 $^{\circ}$ C で 2~3 週間培養後、単コロニーを釣菌し、Middlebrook 7H9 broth (4 mL) にて増菌し 4 $^{\circ}$ C に保存する。

(3) 同定

上記純化菌を接種した 1% 小川培地あるいは Middlebrook 7h9 broth 培養菌を供試菌として、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 \pm 1 $^{\circ}$ C、24 \pm 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 $^{\circ}$ C、42 $^{\circ}$ C で 7 日間培養する。

6. 黄色ブドウ球菌について

1) 試料 10ml、1ml および 0.1ml を食塩加え (7.5%) トリプトソイブイヨン各 3 本ずつに

接種する。試料 10ml は倍濃度の培地 10ml に接種する。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 D の平成 2 年 7 月製造、施設 E の昭和 62 年 12 月製造、施設 F の平成 18 年 8 月製造、施設 G の平成 18 年 10 月製造、施設 H の昭和 59 年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。

残留塩素の検討

ユニットおよびホースを使用して 21 年以内の 17 台のユニットのエアシリンジからの排水を診療前に採取し、TANITA 社製残留塩素濃度計を用いて残留塩素濃度を検討する。

C. 結果

施設 D からのスリーウェイシリンジからの水において従属細菌 (42℃培養) 1.2×10^6 /ml が検出された。その他のカブールは上述の微生物を検出することが出来なかった (表 1)。

施設 E, F, G からの水において、上述の微生物は検出することが出来なかった (表 1)。

施設 H のスリーウェイシリンジとタービンにおいて従属細菌 (20℃培養) 8.3×10^6 /ml と 2.2×10^6 /ml が検出されたが、他の微生物は検出されなかった。水道水では上述の微生物は、検出することが出来なかった (表 1)。

残留塩素の検討

排水 3 分以内に残留塩素が検出できたものは 6 台で、出来なかったものは 11 台であった。出来なかったユニットは全てホースの使用年数が 5 年を超えていた。検出できたユニットは 4 台が 5 年以内で、2 台が、5 年から 10 年の使用範囲であった (表 2、3)。

D. 考察

平成 18 年度は、平成 17 年度に行った一般歯科医院 3 施設からさらに 5 施設 (D, E, F, G, H) を増やして、検討を行った。施設 C, D, E, F, G とともに、一般細菌や緑膿菌、大腸菌などの病原細菌は検出できず、2 施設のスリーウェイシリンジとタービンから従属細菌が 1×10^6 CFU/ml 以上検出された。このように正常な免疫応答を有する人では、病原性を発揮することができない従属細菌しか検出できなかった。しかし高齢者や全身

疾患を有するような易感染者に対して感染リスクが高まることが考えられる。検出された施設のデンタルユニットは製造および使用開始してから12年以上経過していた。一方、製造および使用を開始してから1年以内のデンタルユニットでは、従属細菌も検出されなかったことから、使用年数と微生物汚染は密接に関係があることが考えられた。残留塩素の測定結果でも、5年以上使用しているホースからの排水で、残留塩素が検出されなくなっていることから、長期間のユニットの使用が微生物汚染の原因をつくっていることが考えられる。5年以上使用したデンタルユニットは排水の微生物検査や残留塩素量検査を行い、基準値よりも悪化している場合は、ホースの交換やユニット内の除菌操作を行う必要があると考えられた。

E. 結論

デンタルユニット内の微生物汚染を回避するためには、5年以上使用したデンタルユニットの排水における微生物検査や残留塩素量検査を行う必要がある。その際に、基準値よりも悪化している場合は、ホースの交換を含めユニット内の除菌操作を行う必要がある。

F. 研究成果発表

論文発表

1. Salam MA, Tada A, Yonezawa H, Watanabe H, and Senpuku H. Human T-cell responses to oral streptococci in human PBMC-NOD/SCID mice. *Oral Microbiol Immunol*. 21:169-176. 2006.
2. Tada A, Senpuku H, Motozawa A, Hanada

N, and Tanzawa H. Association between commensal bacteria and opportunistic pathogens in the dental plaque of elderly individuals. *Clin Microbiol Infect*. 12: 776-781. 2006.

3. Motegi M, Takagi Y, Yonezawa H, Hanada N, Terajima J, Watanabe H and Senpuku H. Assessment of Genes Associated with *Streptococcus mutans* Biofilm Morphology. *Appl Environ Microbiol*. 72: 6277-6287. 2006.

4. Saotome Y, Tada A, Hanada N, Yoshihara A, Uematsu H, Miyazaki H and Senpuku H. Relationships of cariogenic bacteria levels with periodontal status and root surface caries in elderly Japanese. *Gerodontology*. 23: 219-225. 2006.

5. Maeda T, Kitasako Y, Senpuku H, Burrow MF, and Tagami J. Role of oral streptococci in the pH-dependent carious dentin. *J. Med. Dent. Sci*. 53: 159-166. 2006.

6. Senpuku H, Tada A, Nakao R, Yonezawa H, Yoneda S, Yoshihara A and Miyazaki H. Relationships of anti-PAc (361-386) peptide salivary IgA antibody, eosinophils, and basophils with periodontal status in elderly. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 49: 84-90. 2007.

7. 泉福英信、インプラント対応型「清掃空間」とは？アポロニア 8: 66-69. 2006.

8. 泉福英信、歯科ユニットのバイオフィルム、化学療法の領域、22: 26-30. 2006.

9. 泉福英信、米田早織、抗ウイルス薬、歯科におけるくすりの使い方、p. 78-79、監

修佐々木次郎、東理十三雄、デンタルダイヤモンド社、2006年。

10. 泉福英信、感染症対策はどこまでやればよいか？日本歯科評論、771：13-15. 2007.

11. 泉福英信、歯科医療に関わる全身感染症の最近の動向、日本歯科評論、773：123-128. 2007.

12. 泉福英信、歯科医療機関における院内感染対策の導入について、774： . 2007.

学会発表

1. 泉福英信、多田章夫、小森康雄、歯科医療における院内感染対策の意識向上と行動について、第55回口腔衛生学会総会、大阪、10月6日~10月8日、2006. 56：56(0-21).

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

表1 スリーウェイスリンジ、タービン、水道からの水における微生物汚染検査

施設	デンタルユニット の製造年月	採水部位	一般 細菌	従属 細菌 (20℃)	従属 細菌 (42℃)	大腸菌	黄色 ブドウ 球菌	抗酸菌	原虫	シオネラ
D	平成2年7月	スリーウェイスリンジ タービン 水道水	—	0	1.2×10^6	—	—	—	—	—
E	昭和62年12月	スリーウェイスリンジ タービン 水道水	—	0	0	—	—	—	—	—
F	平成18年8月	スリーウェイスリンジ タービン 水道水	—	0	0	—	—	—	—	—
G	平成18年10月	スリーウェイスリンジ タービン 水道水	—	0	0	—	—	—	—	—
H	昭和59年	スリーウェイスリンジ タービン 水道水	—	8.3×10^6	0	—	—	—	—	—
			—	2.2×10^6	0	—	—	—	—	—
			—	0	0	—	—	—	—	—