

厚生労働科学研究費補助金

地域医療基盤開発推進研究事業

歯科医療における院内感染対策の 評価指標の開発と有効性の検証

平成20年度 総括・分担研究報告書

研究代表者

泉 福 英 信

平成21（2009）年3月

厚生労働科学研究費補助金

地域医療基盤開発推進研究事業

歯科医療における院内感染対策の 評価指標の開発と有効性の検証

平成20年度 総括・分担研究報告書

研究代表者

泉 福 英 信

平成21（2009）年3月

目 次

I. 総括研究報告	
歯科医療における院内感染対策の評価指標の開発と有効性の検証	----- 1
泉福英信	
II. 分担研究報告	
1. デンタルユニット内循環水を用いた検査システムの評価方法の開発および評価基準の作成	-----17
泉福英信	
2. 歯科診療における院内感染対策の意識、知識、行動調査とその分析を利用した院内感染の評価指標の確立	-----25
小森康雄、泉福英信	
2. バイオフィルム形成菌および形成指標の開発	----- 73
公文裕巳	
3. 院内感染における薬剤耐性菌の評価指標の開発	----- 77
狩山玲子	
4. 歯周病診療における院内感染の評価指標の開発とその有効性	----- 81
(易感染性患者の口腔内細菌叢の評価指標の開発に向けた分子生物学的細菌検査法の応用とその有用性の検討)	
高柴正悟	
5. 院内感染の評価指標の細菌学的検証	-----87
(歯科臨床実習学生のネームカードへの細菌飛散状況調査)	
(研修歯科医師における感染予防対策に対する意識と行動について)	
苔口 進	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	----- 93
IV. 研究成果の刊行物・別刷	----- 97

I. 総括研究報告書

歯科医療における院内感染対策の評価指標の開発と有効性の検証

泉福英信

厚生労働科学研究費補助金（地域医療基盤開発推進研究事業）
総括研究報告書

「歯科医療における院内感染対策の評価指標の開発と有効性の検証」

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： 唾液や血液が飛び散る可能性の高い歯科医療において、全身感染症を有する患者に対してどのような指標のもと、歯科医療を提供していけばよいか明確な基準が示されていない。そこで本研究は、歯科医療における院内感染対策の評価指標の開発と有効性の検証するために、平成20年度は6つの研究班を組織して研究を行った。

「デンタルユニット内循環水を用いた検査システムの評価方法の開発および評価基準の作成」では、デンタルユニット作製会社における取り組みについて調査をしたが、給水系に対する対策は不十分でありかつそれぞれが個々の対応に終始しており、統一された基準が示されていないのが現状であった。微生物検査、デンタルユニットの使用年数、チューブの交換、除菌剤による処理などを踏まえて、デンタルユニット作製会社を交えた対策が急務であった。

「歯科診療における院内感染対策の意識、知識、行動調査とその分析を利用した院内感染の評価指標の確立」では、院内感染対策の講習会への参加、院内感染対策のスタッフへの教育、防護用メガネ、グローブの使用、問診票の作成が他の院内感染対策に影響を与えることから、この4項目が有効な院内感染対策の評価指標になりうると考えられた。この4つの質問項目を軸にして有効な院内感染対策の指標を作成していくことが重要であると考えられた。

「バイオフィーム形成菌および形成指標の開発」では、メタロ-β-ラクタマーゼ（MBL）産生緑膿菌や多剤耐性緑膿菌（MDRP）の伝播・拡散防止には、バイオフィームを形成させないための医療・療養環境の管理が重要であることを指摘した。

「院内感染における薬剤耐性菌の評価指標の開発」では、療育センター入所中の重症心身障害児（者）を対象に口腔ケア方法を長期間にわたり実施し、日和見菌に対して一定の介入効果を認めた。今後薬剤耐性菌を含めた菌への口腔ケアの効果を検討することがMRSAなどの院内感染防止につながると考えた。

「歯周病診療における院内感染の評価指標の開発とその有効性」では、健常者の口腔内細菌叢を、T-RFLP法（Terminal Restriction Fragment Polymorphism）によって、移植患者の口腔内細菌叢と比較した。健常者と移植患者の間では、T-RFLP法のピークパターンは明瞭に異なっていた。よって、院内感染の検査指標としてT-RFLP法は有用である可能性が示唆された。

「院内感染の評価指標の細菌学的検証」では、ネームカードホルダー付着細菌をR1フィルムバッチのようにモニタリングすることでどの程度病原体による飛散を受けているかがわかる。これは、院内感染対策の指標に有用であると考えられた。

研修歯科医師は、診療および指導環境の変化により感染予防対策行動に影響を受けやすいことが明らかとなった。そのような影響を受けやすい点は、その院内感染対策を不十分にさせる要因であった。研修歯科医師に対して診療および指導環境の統一および更なる感染防止対策講習や実践教育の充実が望まれた。

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
苔口 進 岡山大学大学院準教授

研究協力者

(泉福班)

米田早織 国立感染症研究所協力研究員
落合邦康 日本大学歯学部 教授

(小森班)

米田早織 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
山本満寿美 福山平成大学看護学部助教
光畑律子 岡山大学大学院技術補佐員

(狩山班)

山本満寿美 福山平成大学看護学部 助教
森 みずえ 九州看護福祉大学 講師

(高柴班)

谷本一郎 岡山大学大学院助教
曾我賢彦 岡山大学大学院助教
前田博史 岡山大学大学院準教授
苔口進 岡山大学大学院準教授

(苔口班)

狩山玲子 岡山大学大学院助手
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

「デンタルユニット内循環水を用いた検査システムの評価方法の開発および評価基準の作成」

デンタルユニット給水系は、給水チューブ内面にバイオフィームが形成されて様々な菌に汚染されている。16～18年度厚生労働科学研究班「歯科医療における院内感染防止システムの構築」における分析では、歯科医師の約70%が給水系の汚染を認識しているにも関わらず、的確な対策が取られていないことも明らかとなった。デンタルユニットは、排水の微生物汚染状況の検査を行い、必要に応じて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る。そこで、給水中の微生物量を改善することを目的として、個々のデンタルユニット作製会社が行っている院内感染対策の方法を調べた。

「歯科診療における院内感染対策の意識、知識、行動調査とその分析を利用した院内感染の評価指標の確立」

日本では歯科医師の院内感染対策に対する意識が低いにもかかわらず、歯科においてはどのような院内感染指標のもと、医療を提供していけばよいか明確な基準が示されていない。

平成19年度には医療法の一部改正、平成20年度には保険点数の改正が行われ、より院内感染対策が行われるように行政上の取り組みが行われた。このような状況を踏まえて、平成16～18年度までの厚生労働科学研究班の検討および平成19年度の本研究班の検討における成果からタービンヘッドの交換、スタンダードプリコーションのス

スタッフへの教育など 11 項目を院内感染対策の評価基準の候補項目として挙げた。この評価基準を用いれば、歯科医院の院内感染対策を行う際の目標値および指導する際の評価項目となり、より有効に院内感染対策を導入していくことができる。

本年度の研究では、この候補 11 項目の有効性を検証することを目的とし、過去に行ったアンケート調査と本年度に行ったアンケート調査を比較しながら医療法や保険点数の改正の効果なども検証していくことを目的とする。

「バイオフィーム形成菌および形成指標の開発」

歯科医療においては、デンタルユニットや歯科ウォータールインで細菌バイオフィームの存在が確認されている。従って、歯科医療における院内感染対策の評価指標の開発を行う上で、日和見感染菌(緑膿菌)のバイオフィーム形成能を検討することは重要な研究課題である。

近年、イミペネム(IPM)、シプロフロキサシン(CPFX)、アミカシン(AMK)の 3 剤に耐性を示す多剤耐性緑膿菌(MDRP)による院内感染が問題になっている。なかでもメタロ-β-ラクタマーゼ(MBL)産生緑膿菌は、ほぼ全ての抗菌薬に耐性を示すため、徹底した院内感染防止対策の実施が求められている。

本研究では、MBL 産生緑膿菌のバイオフィーム形成能と薬剤耐性状況およびパルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)法による遺伝子解析を行い、MBL 産生緑膿菌や MDRP の感染管理対策について考究した。

「院内感染における薬剤耐性菌の評価指標

の開発」

医療依存度の高い入院患者および在宅療養患者の口腔ケアに関する評価システムの構築は、歯科医療における院内感染対策の評価指標の開発を行う上で、重要な研究課題である。

療育センター入所中の重症心身障害児(者)を調査対象に加え、口腔ケアへの介入を開始した。薬剤耐性菌を含む日和見感染症の主たる原因菌の検出状況を指標として、介入効果を長期にわたり追跡することで、具体的な問題点を抽出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」

造血幹細胞移植とは、再生不良性貧血、骨髄異形成症候群、あるいは白血病や悪性リンパ腫などの造血系の悪性腫瘍の治療のために行われるものである。近年、口腔内の感染源が患者の全身状態に影響することが示唆されはじめており、移植前には歯周病治療をはじめとした歯科治療によって口腔内の感染巣を除去する必要がある。これらの易感染性患者を対象とした歯科医療の実施に際しては、特に院内感染の防止に重点をおいた治療のあり方が要求される。このため、患者の口腔内細菌叢を把握しておくことが重要になる。本研究は、造血幹細胞移植患者の口腔内細菌叢を T-RFLP 法を用いて解析することによって、患者の口腔内の感染リスクの指標を検索すること、この検査法の有用性について検討することを目的とした。

「院内感染の評価指標の細菌学的検証」

(歯科臨床実習学生のネームカードへの細

菌飛散状況調査)

某歯科臨床では、水を使用してエアロゾルが発生する歯科治療器具（超音波スケーラー、エアタービン、3 ウェイシリンジなど）を介して、患者の唾液や血液が飛散するため、院内感染が懸念されている。今回は歯科治療をする際、胸に着けているネームカードをひとつのマーカーとしてその表面に飛散し付着している細菌について、分子生物学的手法を用いて調査した。

(研修歯科医師における感染予防対策に対する意識と行動について)

平成18年4月からは必修化された歯科医師臨床研修制度がスタートした。歯学部を卒業し、これから歯科臨床の現場に立ち様々な症例にも対応できるように、一般的な診療においては基本的な診療能力を身に付けることが求められている。その研修プログラムにおいて院内感染防止対策や病原微生物（結核、MRSA、HIV、HBV など）に対する意識、教育またその習熟度合いまた実際の行動などが今後の歯科における院内感染防止対策を図る上で重要と考える。

今回、研修歯科医師を対象に感染予防対策に対する意識と行動を把握し、歯科診療における感染予防対策の問題点と歯科臨床における対処法などを考察した。

B. 研究方法

「デンタルユニット内循環水を用いた検査システムの評価方法の開発および評価基準の作成」

某 A, B, C のデンタルユニット作製会社の院内感染対策方法について取材をしどのような方法で行われているか検討する。問題点などを考えどのように改善できるか検討を行う。

「歯科診療における院内感染対策の意識、知識、行動調査とその分析を利用した院内感染の評価指標の確立」

平成16年および平成18年にアンケート調査を行った某 A 県に所属する3860 歯科医療機関を対象にアンケート調査を行った。575 から回答があり、14.8%と前回(10.1%)よりも高く、前々回(19%)よりも低い回収率を示した。過去2回との比較を行い、医療法や保険点数の改正ならびに某 A 県で行っている歯科診療における HIV 歯科診療体制運営検討委員会における取り組みなどを考慮に入れ検討を行った。また、質問事項と質問事項との関係についても検討を行った。

さらに、平成17年に行った某 C 県に所属する3313 歯科医療機関を対象にしたアンケート調査も行った。1925 から回答があり、58.1%と前回(61.7%)よりも下回ったが大きな差ではなかった。このアンケート調査の結果を用いて1) 性別を分け、2) 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。3) 標榜科を分け、各質問項目に対する回答を算出した。4) 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。さらに院内感染対策の評価基準の11候補項目の有効性を検証することを目的とし、過去に行ったアンケート調査と本年度に行ったアンケート調査を比較した。

「バイオフィルム形成菌および形成指標の開発」

A 県 3 施設で 2001 年～2006 年の 6 年間に分離された MBL 産生緑膿菌 123 株(1 症例 1 株)を対象とした。材料別内訳は、尿 79 株、喀痰 10 株、便 10 株、膿 5 株、血液 2 株、その他 17 株であった。また、MBL 非産生緑膿菌 122 株を比較対象として用いた。*bla*_{IMP-1} 遺伝子保有の確認は PCR 法で行った。薬剤感受性試験にはドライプレート DP25(栄研化学)を用い、3 剤(IPM, CFX, AMK)について、感性・耐性を判定した。

バイオフィームアッセイには 96 穴マイクロプレートを用い、供試菌をトリプトソイヨン培地中、37°C で静置培養した。24 時間後に形成されたバイオフィームをクリスタルバイオレットで染色、エタノール溶出液の吸光度(OD₅₇₀ 値)を測定した。バイオフィーム形成能は、OD₅₇₀ 値により高度形成群(OD₅₇₀ ≥ 1)、中等度形成群(1 > OD₅₇₀ ≥ 0.5)、低度形成群(0.5 > OD₅₇₀ ≥ 0)の 3 群に分類した。

PFGE 法は BIO-RAD 社のプロトコールに準じて行った。ゲルブロックの処理は制限酵素 *Spe* I などを用いて行い、CHEF DR-III (BIO-RAD) で泳動後、GelDoc XR (BIO-RAD) にて撮影した。クラスター解析には Fingerprinting II (BIO-RAD) を使用した。

「院内感染における薬剤耐性菌の評価指標の開発」

A 県の療育センター(1 施設)に入所中の重症心身障害児(者)56 名を対象とした。11 名は観察室において 24 時間の医療・生活管理を受け、45 名はデイルームにおいて介護を受けていた。保護者から同意が得られた対象者 56 名の①患者背景、②摂食・嚥下の状態、③口腔内の状態、④口腔ケアの方法等について調査結果を集計した。

検体採取には日和見感染菌検査キット(BML 社)を使用し、対象者の左側上顎臼歯部 5・6・7 番相当部、頬側歯頸部を滅菌スワブにより 5 往復擦過し、採取した歯垢をカルチャー用滅菌チューブに挿入した。細菌の菌種同定と概算菌量(+: 10⁴, +++: 10⁵~10⁶, ++++: 10⁷)は BML 社に依頼した。なお、採取時間は毎回昼食 30 分前とした。

対象者は観察室とデイルームに大別され、観察室の障害児には嚥下困難があり誤嚥の可能性も高いため、デイルームの障害児(者)とは異なる方法で口腔ケアが実施されていた。そこで、観察室の障害児とデイルームの障害児(者)に対して、それぞれに除菌効果が高いと考えられる口腔ケア方法を考案し、ケア提供者(看護師および介護スタッフ)に新しい方法での実施を依頼した。

56 名の調査結果に基づいて、検出頻度の高かった 3 菌種(MRSA, *P. aeruginosa*, *S. marcescens*)のいずれか 1 菌種でも検出された 20 名の追跡調査を行うこととした。口腔ケア方法の変更 1 ヶ月、2 ヶ月、および 5 ヶ月後の歯垢を採取し、検査対象菌の検出状況・概算菌量を調べた。なお、変更した口腔ケアは 5 ヶ月間 56 名全員に実施された。

「歯周病診療における院内感染の評価指標の開発とその有効性」

11. 被験者とサンプリング

岡山大学医学部・歯学部附属病院の血液・腫瘍内科において造血幹細胞移植を行うにあたり、歯周科において口腔内感染管理のために紹介された患者 7 名を、岡山大学歯学部の研究室配属学生および歯周科医局員の 9 名を健常コントロール群として、被験対象とした。患者の細菌検査用のサン

ブルは、移植前に1回と移植後に2回、粘膜から拭って採取した。健常者のサンプルは、開始時と1ヵ月間隔を空けた時に、生理食塩水を1分間含嗽したものをサンプルとして回収した。

2. DNA 抽出

被験者から得たサンプルから DNA を抽出し、T-RFLP 法のためのテンプレートとして用いた。抽出には InstaGene Matrix (Bio-Rad) を使用した。

3. T-RFLP 解析

細菌サンプルの DNA をテンプレートとし、蛍光標識 (6-FAM) したプライマーを用いて細菌 16S rRNA 遺伝子 (16S rDNA) を増幅した。増幅 DNA を制限酵素 *Msp*I で消化し、ABI PRISM 310 Genetic Analyzer でエレクトログラムを得た。断片長の解析には Peak Scanner™ (ABI) を用いた。系統解析は MicrobiotaProfiler (インフォコム) を用いて行った。

「院内感染の評価指標の細菌学的検証」 (歯科臨床実習学生のネームカードへの細菌飛散状況調査)

1. 検査対象：歯科臨床実習学生が1年間使用したネームカード (ポリカーボネート製; 7cm x 9cm) 53 枚と未使用 3 枚を調査対象とした。

2. DNA 抽出：滅菌綿棒「ふきふきチェック II」(栄研器材) で表面を拭き取り試料液を遠心し、付着菌体を回収した。インスタジーンで回収菌体から DNA を抽出した。

3. 分子生物学的手法による細菌汚染調査:PCR 法で細菌 16S rRNA 遺伝子 (16S rDNA)、

Staphylococcus aureus 特異遺伝子 *nucA*、各種薬剤耐性遺伝子 (*mecA*、*blaVIM*、*blaIMP*、*vanA*、*vanB*) を増幅して調べた。また細菌状況は 16S rDNA の PCR 増幅バンドの濃さとして電気泳動画像解析ソフト (Basic Quantifier、リライオン) を用いて数値化した。

4. 細菌種の同定: 16S rDNA 塩基配列で行なった。すなわち、菌種の同定や分類に用いられる細菌 16S rDNA を PCR 法で増幅し、増幅 DNA 断片を TopoTA クローニングキット (Invitrogen) を用いてクローニングした。それぞれの塩基配列を決定後、Web 上で公開されている細菌 DNA データベースと照合し、菌種を決定した。

(研修歯科医師における感染予防対策に対する意識と行動について)

1. 対象者：研修歯科医師 55 名を対象にアンケート調査を実施した。
2. アンケート調査および質問内容: 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。質問項目は 19 問で内容の概略は以下の通りである。

①感染予防対策教育経験の有無、②スタンダードプリコーション (SP) の知識の有無、③スリーウェイシリンジの水は水道水より細菌が多いことの知識の有無、④⑤⑥防護メガネ、マスク、グローブ着用の有無、⑦⑧⑨患者毎の防護メガネ、マスク、グローブ交換の有無、⑩⑪針刺し事故経験の有無と対応、⑫ヒヤリ・ハット経験の有無、⑬⑭不潔手袋で清潔域に触れた経験の有無と理由、⑮⑯指導が優しい、厳しい指

導医との診療時の感染予防対策の変化について、⑪診療環境の変化によって感染予防対策を怠る点について、⑫指導医に感染予防対策が不十分な者の有無、⑬指導医の感染予防対策が不十分な時の対応

C. 研究結果・考察

「デンタルユニット内循環水を用いた検査システムの評価方法の開発および評価基準の作成」

デンタルユニット作製会社における取り組みについて調査をしたが、給水系に対する対策は不十分でありかつそれぞれが個々の対応に終始しており、統一された基準が示されていないのが現状である。微生物検査、デンタルユニットの使用年数、チューブの交換、除菌剤による処理などを踏まえて、デンタルユニット作製会社を交えた対策が急務である。

「歯科診療における院内感染対策の意識調査」

1 某A県におけるアンケート調査における平成18年と平成20年との比較

平成18年と平成20年を比較して、感染対策マニュアル作成、研修会への参加を行った施設が著しく増加した。さらに防護用メガネの、口外バキュームを設置している施設も増加している。これは、平成19年度に行った医療法や昨年行った保険点数の改正が影響していることが考えられる。しかし、HIV感染者の歯科治療について、その受け入れ意識に反映することがなかった。全体的に見ると一部の行動に関する院内感染対策が向上する傾向が見られたが、それが大きく意識に影響しているようではなかった。

それは、18年に比較して20年において60歳以上の歯科医師の割合が上昇したことが影響している可能性が考えられた。

2. 某A県の平成18年度におけるアンケート調査の分析(表3)

感染対策マニュアルを作成しているグループと作成していないグループで比較すると、40～49歳でその数に大きな差が見られた。この年齢のグループは、研修会に多く参加するグループでもあるので、この年齢のグループがより影響を受けやすくなっていると考えられる。それと一般歯科以外に口腔外科、矯正歯科、小児歯科の標榜科を有する施設がマニュアルを作成する割合が多く、様々な治療への関心の高さが院内感染対策への関心にもつながる可能性が考えられる。HIV感染者の自院での受け入れ行動や防護用マスクやグローブの使用などの行動やスタンダードプリコーションなどの知識もマニュアルの作成と密接に関係していた。マニュアルの作成が院内感染対策の意識、知識、行動のパロメーターになる可能性があることが考えられた。また、一日の来院患者数が46人を超えているグループとマニュアルの作成が関係していた。これは、院内感染対策に対する取り組みが経済的な余裕と関係してくるのかもしれない。一方で、このような院内感染対策を導入する歯科医院に患者も多く来院しているのかもしれない。

3. 某A県の平成20年度におけるアンケート調査の分析(表4)

平成18年度の結果を考慮に入れると、感染対策マニュアルを作成しない59歳以上

の歯科医師が増えていることが明らかである。マニュアルを作成する40~49歳も減ってきている。矯正歯科を標榜する施設も減っている。これも、59歳以上の歯科医師が増えてきていることが原因かもしれない。18年から20年にかけてマニュアルの作成や研修会の参加者が増えているにも関わらず、HIV感染者の受け入れ行動につながっていないのは、もともと院内感染対策に興味の薄い59歳以上の歯科医師が、医療法や保険点数の改正で研修会へ参加しマニュアルを作成するようになったのが原因かもしれない。彼らは、たとえマニュアルを作成しても院内感染対策の意識向上にあまりつながっていないことが考えられる。

4. 某A県の平成19年度と20年度の年齢の違いにおける来院患者数の比較

平成20年度は、平成18年度よりも来院患者数が15人以下の歯科医療施設で働く59歳以上の歯科医師が増えている。彼らは、院内感染対策に意識が低く、院内感染対策マニュアルを作成したり、研修会へ参加してもHIV感染者の受け入れ行動につながってなく、院内感染対策の意識が低いことが考えられる。

5. 平成20年某C県の院内感染対策におけるアンケート調査：平成19年の某D県との比較

今回行った某C県でのアンケート調査の結果は、某D県で行った結果と全体的に似た結果となった。HIV感染者に対しては自院での受け入れ体制が出来ていないことがわかった。また、HIVの感染について大まかの知識はあるものの院内感染制御や治療

をどうすればよいかなど具体的な知識が身につけていないのが現実であった。感染症対策をスタッフに教育しているにも関わらず、感染症対策マニュアルを作成している割合が低いのも、知識が足りないのに加え手間を惜しんでのことであろうと推測される。スタッフに対するB型肝炎ワクチン接種も経済的理由や手間を考え、低い割合になっていると考えられる。よって、経済的な理由に関係なく院内感染対策を充実させるといった根本的な考え方への教育および正しい知識の供給および植えつけが重要であると考えられた。

6. クロス集計の解析の結果、多くの項目で、若年者は意識、知識、行動についての院内感染対策の良好な結果が得られた。これは、某D県よりも顕著に現れた。某C県の有効回答数が多いのが、統計学的な有意差が出やすくなった原因と考えられる。感染者に対する治療における意識は、年齢と強く関係があり、その知識は年齢と口腔外科の標榜に関係がある。これは、若い年齢の方が大学教育を受けたばかりという点と近年のSARSや鳥インフルエンザのような新興感染症が話題となって、感受性の高い若い世代にその関心が高まったせいではないかと考える。口腔外科は、教育の中に感染者の扱いが取り入れられているため、それが知識と関係してきた原因と考えられる。院内感染対策の行動は、費用がかかることもあるため一日の来院患者数が多い経済的に余裕のある歯科医院と関係が出てきたと考えられる。

7. 平成16、18、20年某A県度と平

成17、20年度に行った某C県歯科医師会でのアンケート調査の比較

某A県の患者ごとのハンドピースの交換、感染対策に関するスタッフの教育、スタンダードプリコーションの知識は、平成16年から平成18年にかけて急上昇した。医療法や保険点数の改正は平成18年以降であることから、その影響ではないことが考えられる。この上昇は、某A県で以前から行われているHIV歯科診療体制運営検討委員会の取り組みが影響したことが考えられる。特に平成16年頃から行われた実習や講習会が影響しことが考えられる。感染対策のマニュアルの作成は、平成16年から平成18年はむしろ若干低下し、平成18年から平成20年にかけて上昇した。口外バキュームの設置も同様に平成18年から平成20年にかけて上昇した。これらは、医療法や保険点数の改正が影響した可能性がある。某C県では、某B県で平成20年までに上昇した項目がすべて平成17年から平成20年にかけて上昇した。某C県における取り組みについての情報は無いが、医療法や保険点数の改正が影響した可能性がある。

8. 院内感染対策の評価基準の候補11項目の有効性の検証

全体的に院内感染対策の講習会への参加、院内感染対策のスタッフへの教育、防護用メガネ、グローブの使用、問診票の作成に関する質問がすべてYESと答えた歯科医療施設は、患者ごとのタービンヘッドの交換や口外バキュームを設置する割合が急上昇することが明らかとなった。これらの4つの質問項目は、全体でも80%前後の達成率を示しており、到達可能な項目と考えられ

る。しかしその中で1つの項目が達成できていない場合は、他の院内感染対策の達成率が急激に減少することから、この4つ項目はそろって達成できているかが有効な指標になると考えられる。よって、この4つの質問項目を軸にした評価方法が有効であると考えられた。

「バイオフィーム形成菌および形成指標の開発」

歯科医療における院内感染防止対策という観点からは、デンタルユニットや歯科ウオ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する対策が要であり、水周りの環境を清潔かつ乾燥した状態に保ち、緑膿菌がバイオフィームを形成できない環境を整備する必要がある。

本研究において対象としたMBL産生緑膿菌123株中、尿由来株は79株、MDRPは106株、高度・中等度バイオフィーム形成能を有する菌株は76株であった。緑膿菌性尿路バイオフィーム感染症患者はいわゆる緑膿菌保菌者となるケースが多く、医療施設内で交差感染の汚染源となり得る。免疫抑制宿主を主体とした長期入院患者には尿路カテーテルが留置されることが多いことから、緑膿菌性尿路バイオフィーム感染症は泌尿器科病棟のみならず医療施設全体の問題として対策に取り組むことが必要である。

PFGE解析において、喀痰からの分離株中に2組の類似株を認めたことは、気管内吸引カテーテルに接続するゴム管や吸引ボトルなどの環境中に生息していたMBL産生緑膿菌が、吸引手技を介して伝播した可能性を示唆するものであった。その伝播・拡散防止のためには、気管内吸引の清潔操作に留意することはもとより、吸引前後の手指衛生を行い、手袋の着用、

喀痰の飛沫を防護するためのマスクやエプロンの着用を徹底し、バイオフィーム(歯垢)を形成させないよう口腔ケアを十分に行うことが重要である。

「院内感染における薬剤耐性菌の評価指標の開発」

本研究の対象者に対する従来の口腔ケアは、観察室とデイルームに大別された。観察室の障害児(11名)の口腔ケアは、ポビドンヨードガーグルを2~3滴滴下した水を使用し、吸引器付歯ブラシによるブラッシングを2~3分間朝・夕実施していた。夜間は0.05%グルコン酸クロルヘキシジン洗口液を2~3滴滴下した水で濡らしたガーゼによる口腔清拭を3~4回(不定期)実施していた。デイルームの障害児(者)(45名)の口腔ケアは、1日3回(食後)水道水又はお茶に0.05%グルコン酸クロルヘキシジン洗口液を1~2滴滴下した水を使用して、歯ブラシによるブラッシングを1~2分実施していた。

そこで、本研究において口腔ケア方法を変更(介入)することとした。観察室の障害児に対しては、朝・夕のブラッシング時の使用薬剤をポビドンヨードガーグルから0.05%グルコン酸クロルヘキシジン洗口液に変更し、ブラッシング後は吸引だけでなく、水で濡らしたガーゼによる清拭を行い、夜間の口腔清拭時にポビドンヨードガーグルを滴下した水を使用することとした。デイルームの障害児(者)に対しては、食後に0.05%グルコン酸クロルヘキシジン洗口液を2~3滴歯ブラシに直接付けブラッシングした後、水道水によるブラッシングを1~2分追加し、さらに水で濡らしたガーゼにより口腔内を丁寧に清拭することとした。

MRSA, *P. aeruginosa*, *S. marcescens* の

3菌種のいずれかが検出され追跡調査の対象とした20名の患者背景と菌検出状況を検討した。*P. aeruginosa* は観察室の障害児11名中10名に検出された。これは、観察室の障害児が、寝たきり状態や経鼻経管栄養、気管切開など、これまでに*P. aeruginosa*の口腔内定着と関連性が報告された諸因子を重複して有しているためと考えられた。残りのデイルームの9名の障害児(者)において*P. aeruginosa*が検出された3名のうち1名は経管栄養であり、1名は義歯装着との関連も考えられた。MRSAに関しては、その定着および感染症の発症に、年齢、易感染病態、医療処置など医原性に伴う感染の危険因子と抗菌薬長期投与などが関係するといわれている。本調査の観察室の障害児は、それらの危険因子のほとんどに該当した。デイルームの障害児(者)においてもMRSAが検出された5名のうち2名は経管栄養で他の2名に歯肉異常が見られるなどの危険因子を認めた。また観察室では、輸液・吸引・ガーゼ交換などの医療処置の頻度は高く、1勤務帯に特定の看護師が11人の障害児に高密度に接するため、接触伝播の可能性があった。デイルームでは、障害児(者)間の濃厚接触による接触伝播も考えられた。*S. marcescens*が歯垢から検出された5名中4名は観察室の障害児で、デイルームの1名は夜間に人工呼吸器を使用し、義歯の着脱困難があった。MRSA, *P. aeruginosa*, *S. marcescens*の3菌種のいずれかが検出された障害児(者)の口腔内には、これらの菌が定着していると考えられた。

介入の結果、MRSAは介入後早い時期から陰性化し始め、MRSAが検出された障害児(者)の半数が陰性化した。MRSAには強い組織付着性があるといわれているが、本研究の口腔ケア方法により半数の除去が

可能であった。*P. aeruginosa* については、介入 5 ヶ月後に菌量が減少した障害者(児)は 14 名中 11 名(78.6%)であったが、菌量 ++ が 10 名おり、陰性化に至ったのは 2 名であった。これは障害児(者)自身の内因性因子に加え、*P. aeruginosa* の特徴としてバイオフィーム形成能が高いため、一度定着すると容易には除菌できない性質によるためと考えられた。*S. marcescens* は 5 名中 2 名が陰性化していたが、陰性化しなかった場合は継続的に菌量が多く減少に至らなかった。

「歯周病診療における院内感染の評価指標の開発とその有効性」

移植患者と健常者のサンプル間では、フラグメントピークの数に明瞭な異なっていた。健常者の口腔内細菌叢が多数のピークから観察され、菌種の多様性を示していた。それに比べて、移植患者の口腔内細菌叢では小数のピークのみで、蛍光強度においても小さなもので構成されていた。

患者群と健常者の T-RFLP のエレクトログラム上のピーク数の平均において、蛍光強度が 100 以上を示したものをピークとして抽出した。菌種の多様性を示すピーク数は、移植患者が健常者に比べて少ないものであった。

移植患者の細菌叢に存在する菌種数は健常者に比べて少なかった。これは移植を受けた後だけではなく、移植前の細菌叢でも小数のピークしか示さなかった。また T-RFLP 法は定量には適していない手法であることを踏まえても、移植患者でのピークは健常者のものに比べて低い蛍光強度を示した。移植患者の口腔内は多様性の少ない、

そして菌数も少ない細菌叢となっているということになる。

移植患者はその基礎疾患のために長期間にわたって加療を受けてきているはずである。そのなかには抗菌剤の使用はもちろん含まれているはずであるので、この長い治療期間内では口腔内細菌叢がより単純で乏しい菌数に変化してきているのかもしれない。常在細菌数が乏しいということは、外部もしくは異所からの細菌にたやすくニッチェを与えるということになりかねない危険な状況であろう。移植患者は口腔内を感染の場としかねないような乏しい菌数で単純な常在細菌叢しか保有していないと考えることができる。口腔内からの感染のリスクとして、常在細菌の数と種類の少なさを感染リスクの指標として用いることができるかもしれない。

「院内感染の評価指標の細菌学的検証」
(歯科臨床実習学生のネームカードへの細菌飛散状況調査)

PCR 検査で *S. aureus* 特異遺伝子 *nucA* は調べたネームカード 3 枚から、また *mecA* は 4 枚から検出されたが、異なるネームカードからの検出であり、院内感染で注意すべき MRSA の飛散付着はなかったと思われる。しかしながら、*mecA* が検出された試料の細菌種はその大半が *Staphylococcus epidermidis* や *Staphylococcus hominis* であり、methicillin resistant coagulase negative Staphylococci (MRCN) の飛散、感染が危惧された。その他の各種薬剤耐性遺伝子 *blaVIM*、*blaIMP*、*vanA*、*vanB* は検出されず、院内感染で注意すべき薬剤耐性菌である多剤耐性緑膿菌 (MDRP) やバンコマイシン耐性腸球菌 (VRE) の飛散付着はな

かった。また、ネームカードの細菌汚染状況についてPCR増幅16S rDNAを指標として、電気泳動画像を解析した結果は、未使用ネームカード3.45~2.93(平均3.10)、使用ネームカードは31.85~2.07(平均11.67)で、ネームカードへの明らかな細菌飛散付着、蓄積が認められた。

ネームカードへ付着した細菌種については、未使用ネームカードからは*Geobacillus*、*Delftia acidovorans*、*Agrobacterium*、*Xanthobacter*、*Mesorhizobium*など様々な土壌や環境細菌種が認められた。一方、1年間使用したネームカードからは、*S. epidermidis*や*S. aureus*、*Streptococcus salivarius*、*Streptococcus mutans*、*Streptococcus sanguinis*、*Prevotella genomsp.*、*Prevotella melaninogenica*、*Atopobium parvulum*、*Veillonella atypica*など、明らかにヒト口腔由来と思われる多くの細菌種が検出された。

歯科医療環境で診療中に飛散する細菌についてネームカードホルダーをひとつの指標として分子生物学的手法でプロファイル化できた。歯科医療環境の細菌汚染や薬剤耐性菌のモニタリング調査にも分子生物学的手法は有用であった。本調査より、ネームカードホルダーは、細菌汚染源の一つとして注目する必要がある。医療現場において細菌汚染源として調査されてきたネクタイやボールペンやキーボードなどと同様に今後、衛生管理が求められるかもしれない。また今後、歯科臨床における感染予防対策の充実として、ネームカードホルダー付着細菌がRIのフィルムパッチのように院内環境評価指標として利用できるかもしれない。

(研修歯科医師における感染予防対策に対

する意識と行動について)

- 1) アンケート回収は41名から得た(回収率74.6%で、平均年齢は25.9歳)。
- 2) 感染予防対策教育経験、SPの知識、マスク、グローブ着用と患者毎の交換は高い数値を得た。針刺し事故経験は0名、ヒヤリ・ハット経験は23名(56.1%)、不潔手袋で清潔域に触れた経験は35名(85.4%)であった。診療環境の変化によって感染予防対策を怠る点では、「診療時間の延長時」32名(19.4%)、「指導医から急がされた時」28名(17.0%)、「患者から急がされた時」27名(16.4%)が高い回答を得た。指導医の感染予防対策が不十分であった時の対応は、「立場上言いにくい」26名(63.1%)がもっとも高い回答を得た。

本調査から診療環境の変化による感染予防対策行動が変化することが判明した。特に、急がされる、診療延長などの「時間」に関する点は、その対策を不十分にさせる要因であった。また、指導医の感染予防対策が不十分な時の対応の大半が「立場上言いにくい」という回答であり、職場での人間関係のより良い構築も感染予防対策の重要な鍵であることが示唆された。今後、感染予防対策は診療環境全体の整備や改善を含めた総合的対策が求められる。今後、研修歯科医師に対して更なる感染防止対策講習や実践教育の充実が望まれる。

D. 結論

「デンタルユニット内循環水を用いた検査システムの評価方法の開発および評価基準の作成」

給水系を含めた今後の統一したデンタルユニットチェアへの微生物汚染防止システ

ムを構築する必要がある。

「歯科診療における院内感染対策の意識、知識、行動調査とその分析を利用した院内感染の評価指標の確立」

59歳以上の歯科医師に対して医療法や保険点数の改正など行政的な院内感染対策の取り組みは効果的に影響を与えず、59歳以下の歯科医師に対しての行政的な取り組みを含めた実習や講習会による教育が有効に院内感染対策の向上につながると考えられた。特に、経済的な余裕が院内感染対策の行動につながることから、院内感染対策のための保健点数の加算が院内感染対策に影響を与えることが考えられた。

院内感染対策の講習会への参加、院内感染対策のスタッフへの教育、防護用メガネ、グローブの使用、問診票の作成が有効な院内感染対策の評価指標になりうると考えられた。この4つの質問項目を軸により有効な院内感染対策の指標を作成していくことが重要であると考えられた。

「バイオフィーム形成菌および形成指標の開発」

MBL産生緑膿菌やMDRPはバイオフィーム形成能が高く、環境中に長期に生息する可能性がある。MBL産生緑膿菌やMDRPの伝播・拡散防止のためには、徹底した標準予防策の実施とバイオフィームを形成させないための医療・療養環境の管理が重要である。

「院内感染における薬剤耐性菌の評価指標の開発」

本研究の対象者は、麻痺や硬直などの重度の身体障害および知的障害があり、口

腔ケアの実施が困難であった。しかし、本研究において変更した口腔ケア方法を長期間にわたり実施することにより、多くの障害児(者)において、歯垢からの検出菌の陰性化あるいは菌量減少を認めた。これは、自分では含嗽できない障害児(者)に対して、ブラッシングという機械的刺激により除去された歯垢中の細菌を確実に捕らえる方法として、口腔清拭を実施したためと考えられた。

今後の課題として、バイオフィーム形成能の高い菌種の除去を目的とした口腔清拭を行う必要があり、歯科医師や歯科衛生士との連携が重要であると考えられた。

「歯周病診療における院内感染の評価指標の開発とその有効性」

院内感染に配慮した歯科治療を行うにあたって、口腔内細菌叢の多様性を調べるために、分子生物学的手法を用いた細菌検査が、非常に有用である。

「院内感染の評価指標の細菌学的検証」
(歯科臨床実習学生のネームカードへの細菌飛散状況調査)

歯科医療環境で飛散する細菌汚染状況についてネームカードホルダーをひとつの指標として分子生物学的手法でプロファイル化できた。歯科医療環境の細菌汚染状況や薬剤耐性菌のモニタリング調査にも分子生物学的手法は有用であった。

(研修歯科医師における感染予防対策に対する意識と行動について)

診療および指導環境の変化により研修歯科医師の感染予防対策行動が影響を受けることが判明した。そのような影響を受けやすい点は、その院内感染対策を不十分にさ

せる要因であった。研修歯科医師に対して診療および指導環境の統一および更なる感染防止対策講習や実践教育の充実が必要である。

研究成果発表

論文発表

1. Masayuki Kumada, Hidenobu Senpuku, Mizuho Motegi, Ryoma Nakao, Hideo Yonezawa, Hideki Yamamura, Haruo Watanabe and Junji Tagami. Effects of *Enterococcus faecium* on *Streptococcus mutans* biofilm formation using flow cell system. Journal of Oral Biosciences, 50: 68-76, 2008.
2. Hideo Yonezawa, Howard K. Kuramitsu, Shu-ichi Nakayama, Jiro Mitobe, Mizuho Motegi, Ryoma Nakao, Haruo Watanabe and Hidenobu Senpuku. Differential expression of the Smb bacteriocin in *Streptococcus mutans* isolates. Antimicrob Agents Chemother. 52: 2742-2749, 2008.
3. Koyu Kokubu, Hidenobu Senpuku, Akio Tada, Yasuhiko Saotome and Hiroshi Uematsu. Impact of routine oral care to on opportunistic pathogens in institutionalized elderly. Journal of Medical and Dental Science 55:7-13. 2008.
4. 泉福英信, 口腔ケアの効果の実際:医療連携による在宅歯科医療, 編著:箱崎守男、石井拓男、角町正勝, 日本歯科評論社, 2008年, p172-177.
5. 泉福英信、熊田昌幸、田上順次、細菌間相互作用における乳酸菌の口腔バイオフィーム形成抑制効果、日本歯科評論 2008, 789: 39-40.
6. Tashiro Y, Nomura N, Nakao R, Senpuku H, Kariyama R, Kumon H, Kosono S, Watanabe H, Nakajima T, Uchiyama H : Opr86 is essential for viability and is a potential candidate for a protective antigen against biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa*. Journal of Bacteriology 190 (11): 3969-3978, 2008.
7. 門田晃一、狩山玲子、公文裕巳: 緑膿菌性尿路感染症:どう対峙するか. 第42回緑膿菌感染症研究会講演記録 42: 27-30, 2008.
8. 山本満寿美、狩山玲子、光畑律子、石井垂矢乃、上原慎也、渡辺豊彦、門田晃一、公文裕巳、草野展周: メタロ-β-ラクタマーゼ産生緑膿菌のバイオフィーム形成能と耐性遺伝子伝達性の検討. 第42回緑膿菌感染症研究会講演記録 42: 95-99, 2008.
9. 山本満寿美、狩山玲子、光畑律子、公文裕巳、千田好子: メタロ-β-ラクタマーゼ産生緑膿菌のバイオフィーム形成能および分子疫学的解析. 日本環境感染学会誌 (印刷中)
10. 形山優子、山本満寿美、千田好子、狩山玲子: 誤嚥性肺炎患者の口腔内の状態と口腔ケアおよび口腔と吸引痰からの検出菌に関する実態調査. 日本環境感染学会誌 23(2): 97-103, 2008
11. 森みずえ、千田好子、光畑律子、狩山玲子: 気管内吸引を必要とする長期在宅療養患者に対する感染管理と口腔ケアの実態調査. 日本環境感染学会誌 24(1): 27-35, 2009
12. Sugiura Y, Soga Y, Nishide S, Kono K, Takahashi K, Fujii N, Ishimaru F, Tanimoto

- M, Nishimura F, Takashiba S. Evaluation of xerostomia in hematopoietic cell transplantation by a simple capacitance method device. *Support Care Cancer*, 16(10): 1197-1200, 2008.
13. Soga Y, Yamasuji Y, Kudo K, Matsuura-Yoshimoto, K, Yamabe K, Sugiura Y, Maeda Y, Ishimaru F, Tanimoto M, Nishimura F, and Takashiba S. Febrile neutropenia and perioditis: lessons from a case periodontal treatment in the intervals between chemotherapy cycles for leukemia reduced febrile neutropenia. *Support Care Cancer*, 2008 Nov 18. (Epub ahead of print).
14. Ratnasari A, Hasegawa K, Yoshihara K, Nagaoka N, Kokeguchi S, Nishigawa G, Fukui K, Minagi S. Deformation of mesh type stainless palatal plate of maxillary complete denture and the growth of microorganisms. *Nihon Hotetsu Shika Gakkai Zasshi*. 2008;52(4):555-8.
15. Yamabe K, Maeda H, Kokeguchi S, Tanimoto I, Sonoji N, Asakawa S, Takashiba S. Distribution of Archaea in Japanese patients with periodontitis and humoral immune response to the components. *FEMS Microbiol Lett*. 2008;287(1):69-75.
16. Miyagawa J, Maeda H, Murauchi T, Kokeguchi S, Yamabe K, Tanimoto I, Nishimura F, Fukui K, Takashiba S. Rapid and simple detection of eight major periodontal pathogens by the loop-mediated isothermal amplification method. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2008;53(3):314-21.
17. Sugiura Y, Soga Y, Tanimoto I, Kokeguchi S, Nishide S, Kono K, Takahashi K, Fujii N, Ishimaru F, Tanimoto M, Yamabe K, Tsutani S, Nishimura F, Takashiba S. Antimicrobial effects of the saliva substitute, Oralbalance, against microorganisms from oral mucosa in the hematopoietic cell transplantation period. *Support Care Cancer*. 2008;16(4):421-4.
18. 佐藤法仁, 渡辺朱理, 苔口進: 肝炎を中心とした医療関連感染に対する意識調査. *日本環境感染学会誌* 第 24 巻, 第 1 号, p. 53-56, 2009 年.
19. 佐藤法仁, 渡辺朱理, 苔口進: 感染防止と歯科医療受診行動Ⅳ ~「感染予防対策」は患者が歯科医療施設を選択する際に重要なのか~. *医学と生物学 (緒方医学化学研究所 医学生物学速報会)* 第 153 巻, 第 1 号, p. 14-20, 2009 年.

学会発表

1. Hidenobu Senpuku, Saori Yoneda and Haruo Watanabe, A quick diagnosis system for salivary antibody to *S. mutans* and potential caries risk, 108th ASM General meeting, Boston, Jun, 2008.
2. Moriyuki Nakamura, Taisuke Fujibayashi, Akira Tominaga, Taketo Kawarai, N. Satoh, Tsuneyoshi Yamazaki, and Hidenobu Senpuku. Preventive Effects of Hinokitiol Against *C.albicans* Adherence to Epithelial Cells, 87th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, Toronto, Canada. July. 2008.
3. Hiroaki Takeuchi, T. Kawauchi, Kentaro Okuda, K. Tanaka, K. Kawamura,

- Yoshiaki Nomura, Hidehiko Senpuku, and Nobuhiro Hanada, Physicochemical treatment against periodontopathic bacteria using 3DS and azithromycin, 87th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, Toronto, Canada. July. 2008.
4. Mizuho Motegi, Hideo Yonezawa, Ryoma Nakao, Sayuri Yoneda, Yuzo Takagi, and Hidehiko Senpuku, Roles of genes to biofilm formation in *Streptococcus mutans*, 87th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, Toronto, Canada. July. 2008.
 5. Hidehiko Senpuku, Hidehiko Koba, and Kentaro Okuda, Characterizations of peptide binding to SRCRP2 and inhibiting streptococcal adherence, 87th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, Toronto, Canada. July. 2008.
 6. 泉福英信、奥田健太郎、*S. mutans*の歯表面付着阻害ペプチドの特徴、第50回歯科基礎医学会、東京、2008年9月24日
 7. 猪原光、河原井武人、米田早織、植松宏、泉福英信、1型糖尿病およびシェーグレン症候群発症における*e2f-1*の役割、第50回歯科基礎医学会、東京、2008年9月24日
 8. 泉福英信、歯科診療における院内感染対策の導入に関するアンケート調査の分析、第57回日本口腔衛生学会・総会、大宮、2008年10月4日
 9. 山本満寿美、狩山玲子、光畑律子、石井垂矢乃、上原慎也、渡辺豊彦、門田晃一、公文裕巳、草野展周、「メタロ-β-ラクタマーゼ産生緑膿菌のバイオフィルム形成能および分子疫学的検討」、第56回 日本化学療法学会総会：岡山 2008, 6. 6-7.
 10. 佐古真一、和田耕一郎、光畑律子、石井垂矢乃、上原慎也、渡辺豊彦、狩山玲子、門田晃一、公文裕巳、「尿路感染症由来緑膿菌のバイオフィルム形成能と臨床的背景の関連性の検討」、第56回 日本化学療法学会西日本支部総会：広島 2008, 12. 6-7.
 11. 山本満寿美、狩山玲子、光畑律子、公文裕巳、千田好子、「メタロ-β-ラクタマーゼ産生緑膿菌のバイオフィルム形成能およびその問題点と対策」、第24回 日本環境感染学会総会：横浜 2009, 2. 27-28
 12. Hassan W, Tanimoto I, Maeda H, Kokeguchi S, Soga Y, Sonoi S, Y. Kiode Y, Sugiura Y, and Takashiba S, Oral bacterial microflora changes in patients receiving bone marrow transplantation. 86th General Session & Exhibition of the IADR, 2008/7/4 Toronto, Canada.