

200937007A

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21年度 総括・分担研究報告書

研究代表者

泉 福 英 信

平成22（2010）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21年度 総括・分担研究報告書

研究代表者

泉 福 英 信

平成22（2010）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汚染防止システムの標準化の検討	-----19
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	-----23
泉福英信、小森康雄	
3. バイオフィルム形成菌および形成指標の開発	----- 65
公文裕巳	
4. 院内感染における薬剤耐性菌の評価指標の開発	----- 69
狩山玲子	
5. 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(歯科患者の多様性に対する感染対策)	----- 87
高柴正悟	
6. 院内感染の評価指標の細菌学的検証(ATPふき取り検査を用いた歯科医療環境の清浄度調査)	-----95
苔口 進	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	----- 99
IV. 研究成果の刊行物・別刷	-----105

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

泉福英信

「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」

研究代表者 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の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 21 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汚染防止システムの標準化の検討」では、某デンタルユニット作製会社により、給水系において 1000ppm の過酸化水素水を用いる除菌対策を取り入れたデンタルユニットが開発された。使用し始めてから 10 か月後まで、給水内従属細菌が検出されなくなったが、水道水を使用したデンタルユニットでは 6 か月ぐらいから 30~220CFU/ml の従属細菌が検出されるようになった。明らかに、過酸化水素水の給水系除菌効果が認められている。

「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」では、医療法や診療報酬改定による影響および自医院の院内感染対策の高い評価は、口腔外科の標榜、スタンダードプリコーションの理解、患者ごとのハンドピースの交換、患者人数とポジティブな方向に関係していることが明らかとなった。平成 19~20 年度に明らかにした院内感染対策用評価 11 項目を含め院内感染対策を普及させるため方法を 3 つのステップで確立することができた。

「バイオフィーム形成菌および形成指標の開発」では、バイオフィーム形成能が高い緑膿菌は、環境中に長期に生息し、薬剤耐性遺伝子を獲得している可能性がある。メタロ-β-ラクタマーゼ (MBL) 産生緑膿菌の伝播・拡散防止のためには、バイオフィームを形成させない医療・療養環境の管理と MBL 産生菌を指標として検出、徐菌が重要である。

「院内感染における薬剤耐性菌の評価指標の開発」では、慢性期中規模病院の障害者病棟に入院中の患者を対象に、歯垢内日和見病原菌の検出状況を調査した。医療現場において、バイオフィーム形成能の高い菌種 (*P. aeruginosa* や *S. marcescens*) の除去を目的とした歯科医師や歯科衛生士による口腔ケアが重要であることを指摘した。

「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、LAMP 法は従来の検査法にくらべ迅速性と簡便性にすぐれており、口腔ケアや介護歯科医療現場で有用性の高い細菌検査法として応用できる可能性が示唆された。平成 20 年度に行った T-RFLP 法を含め目的に応じた手法の選択が重要であることを指摘した。

「院内感染の評価指標の細菌学的検証」では、歯科医療環境の清浄度について、すべての微生物や生物また唾液や血液などのヒト体液に存在する ATP (adenosine triphosphate: アデノシン三リン酸) をルシフェリン・ルシフェラーゼと反応させ、その際に生じる生物発光 (バイオルミネッセンス) 量を指標に検査した。この「ATP ふき取り検査」によって簡便かつ迅速に、デンタルユニット周囲の清浄度、デンタルユニット給水系からの診療水の細菌汚染ならびに歯科医療従事者へのミストの飛散状況を測定することができた。「ATP ふき取り検査」による歯科医療環境のモニタリングは院内感染対策に有用である。

分担研究者

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
小森康雄 東京医科大学非常勤講師

(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汚染防止システムの標準化の検討」
デンタルチェアユニット内チューブ内では、

使用年数が進むにしたがって、微生物汚染が顕著になり、給水中の微生物濃度がアメリカ歯科学会 (ADA) が推奨する基準値 (200CFU/ml) を越えてくることが明らかとなっている。これはチューブ内に形成されたバイオフィル原因と考えられている。特に休診の次の日の午前中には、水道水に含まれる微生物に比較し数十倍の微生物が検出されるようになる。某デンタルユニット作製会社で、1000PPM の過酸化水素が使用された給水系の除菌装置のついたデンタルユニットが開発された。このデンタルユニットの給水系除菌効果の検討が某大学で行われている。そこで、このデンタルユニットの効果を検査し、効果的な除菌が行われているか検証を行った。

「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」

21 年度に起こった新型インフルエンザパンデミックは、歯科医療においても感染対策の難しさおよびその重要性を改めて認識させた。歯科医療は、治療の際の患者との近接、唾液血液の飛び散りなどから病原体に曝されるリスクが高いためスタンダードプレコーションを徹底して行う必要がある。しかし平成 16~18 年度厚生労働科学研究補助金事業「歯科医療における院内感染防止システムの開発」(代表者：泉福英信) の成果では、スタンダードプレコーションの理解率は一般開業歯科医師で 10%前後と低く、多くの歯科医師が万全の院内感染防止システムの体制での歯科医療を行っていないことが明らかとなった。

平成19年4月1日には医療法の一部が改正され、その中で、歯科診療所においても、「安全管理体制」、「院内感染制御体制」、「医薬品および医療機器の安全使用および管理体制」の整備が求められた。また、平成20年4月1日の歯科保険点数改正では、所定の条件を満たすことにより、「歯科外来診療環境体制加算」として初診時1回30点算定が可能になった。このような行政の取り組みが、どのように院内感染対策に影響を与えているか検証をする必要がある。

本年度の研究では、平成19～20年度の本研究班の検討に基づいて、11の院内感染対策の評価基準項目をさらに活用性を高めていくために、HIV感染者およびAIDS患者の多い地域と少ない地域に分けて歯科医師を対象にアンケート調査を行い比較検討を行う。さらに、医療法および保健点数の改正とその後の院内感染対策との関係がどのような影響であったかについても検討を行い、その結果を分析し、評価指標11項目にどのように反映させていくか検討する。これらのことによって、最終的な院内感染対策の導入のための指標をまとめていくことを目的とする。

「バイオフィルム形成菌および形成指標の開発」

今日の多彩な院内感染症は、細菌バイオフィルムに起因しているといっても過言ではない。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ラインで細菌バイオフィル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)のバイオフィル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。

数年来遂行してきた MBL 産生緑膿菌に関する研究課題において、「バイオフィルム形成能および分子疫学的解析」についての研究成果は、昨年度末に原著論文として報告した。それら一連の研究課題のなかで、本年度は「耐性遺伝子の伝達性」に関する検討を中心に行った。

「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。

昨年度までに、急性期大規模病院に治療目的で入院した誤嚥性肺炎患者ならびに気管内吸引を必要とする在宅療養患者を調査対象として、口腔・吸引痰および気管内吸引カテーテルの洗浄液・浸漬液から検出された薬剤耐性菌に着目した研究を行い、それらの研究成果を原著論文として報告した。さらに、療育センター入所中の重症心身障害者(児)を調査対象に加え、歯垢内日和見病原菌の検出状況を調査した。その後、

より消毒・除菌効果が高いと期待できる口腔ケア方法に変更し、5 ヶ月間の効果を評価し、その研究成果は本年度に論文化した。

本年度は、さらに慢性期中規模病院の障害者病棟に入院中の患者を調査対象に加え、歯垢内日和見病原菌の検出状況を調査した。一方で、重症心身障害児と健常児における歯垢内日和見病原菌の検出状況に関して比較検討を行った。

「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」

歯周病などの口腔細菌感染症が発症すると、局所の炎症所見はもちろん、全身にも少なからぬ影響が生じることが明らかになってきた。歯周病は医科学的に慢性微弱炎症として捉えられ、その存在は糖尿病や動脈硬化などの全身疾患を悪化させることが多くの疫学研究によって報告されている。

歯科を含めた医療の現場では、医療財政の圧迫化に加えて、いわゆる“易感染”状態に陥る高齢者や移植患者に対する医療の“質”の変化が、今後、要求される。すなわち、厚生労働的には、我が国の現在の医療のコンセプトを根本的に見直し、易感染患者にも対応できる医療体制の早急な整備が望まれる。また、「易感染状態」として認識される高齢者や要移植患者などは、積極的に歯科医師が介入することで、口腔感染源を除去・コントロールして、結果的に、その生命予後の改善に繋がるというコンセプトを下にして、我々、歯科医療従事者がこの新たな医療体制に貢献することは、非常に重要であると考える。

本研究では、今後、さらに多様化すると考えられる要歯科患者に対して、効果的・効率的な口腔感染コントロールの実践可能な体制整備の一助になることを目的に、これまでの研究期間（継続前課題も含む）の成果合わせて、1. 口腔感染源である口腔細菌の検査はどのような手法を用いて行うのか、2. 観血処置が困難な患者に対して如何なる治療を行えば効果があるのか、の観点で検討した。

「院内感染の評価指標の細菌学的検証」 (ATP ふき取り検査を用いた歯科医療環境の清浄度調査)

新型や季節性インフルエンザの流行が懸念される昨今、手洗い消毒や生活環境の清掃・消毒などの感染予防対策に関心が高まっている。歯科診療においては患者唾液や血液や病巣切片などが周囲にミストとして飛散する状況下であり、安全・安心で良質な医療を提供するためには、まず医療環境の清浄度が求められる。デンタルユニットや診療室の清掃や清拭後の目視だけの清浄度確認だけでは不十分であり、科学的な指標や統一した基準が院内感染対策には必要となろう。

「食品衛生検査指針 微生物編2004（厚生労働省監修）」に記載されている「ATPふき取り検査」は迅速かつ簡便にまた安価に清浄度調査を行うことができる検査方法である。この検査では清浄度を検出・数値化するために、すべての微生物や細胞などに存在するATP (adenosine triphosphate: アデノシン三リン酸)をルシフェリン・ルシフェラーゼと反応させた際の生物発光（バイオルミネッセンス）量を測定する。そこ

で、「ATPふき取り検査」を用いて、歯科医療環境の清浄度調査を行って、この方法を歯科医療における院内感染対策への活用に繋げることを目的に研究を進めた。

B. 研究方法

「デンタルユニット内循環水を用いた汚染防止システムの標準化の検討」

1000PPM の過酸化水素を使用した某会社性クリーンシステム搭載の歯科用チェアユニットクリーンシステム：3%の過酸化水素水の希釈液(1000PPM)で給水管路(ハイスピードハンドピース、マイクロモーター、スリーウエイシリンジ、超音波スケーラー、カップ給水)を自働洗浄できる。

毎日の診療後に過酸化水素水を給水管路内に流して洗浄後、夜間および休日中滞留させ、診療開始前に残留水を排出(フラッシング)装置で過酸化水素水を排出して水道水に入れ替え、診療中は水道水を使用する。

コントロール：過酸化水素水を使用しないで水を使用するハイスピードハンドピース給水管路を設置しコントロールとしている。給水管路チューブは内面の材料がフッ素樹脂チューブであり、タービンハンドピースは逆流防止効果のある TwinPower を使用している。チェアユニットは通常どおり診療に使用し、稼働時間は積算タイマー記録を目安に均等になるようにしている。

水質検査：毎週金曜日の診療後、流出する水を採取して、0.1ml を R2A 寒天培地に接種、25°C で 7 日間培養後コロニー数を算定している。

「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」

平成 20 年に行った某 A 県 (HIV, AIDS 患者の多い) に所属する 3860 歯科医療機関を対象にアンケート調査 (回答数 575、回答率 14.8%) を利用して再検討を行った。また、平成 20 年に行った某 E 県 (HIV, AIDS 患者の少ない) に所属する 1149 歯科医療機関を対象にアンケート調査 (回答数 694、回答率 33.4%) を利用して、某 A 県との比較検討を行い、医療法や保険点数の改正における意識についても検討を行った。また某 E 県において、で医療法や保険点数の改正における意識がどのような項目と関連深いか併せて検討をおこなった。

「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 123 株 (1 症例 1 株) を対象とした。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、CLSI に準じた微量液体希釈法により行った。感染症法に基づき、MDRP は MIC 値：IPM ≥ 16 μg/mL、CPFX ≥ 4 μg/mL、AMK ≥ 32 μg/mL の全てを満たす菌株とした。

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ブイオン培地中、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。

接合伝達実験には、bla_{IMP-1} 遺伝子を保有

する 35 株(バイオフィーム高度形成群:10 株、中等度:12株、低度:13株)を供与菌、リファンピシン耐性の *P. aeruginosa* ML5017 株を受容菌として用いた。選択培地は Mueller-Hinton agar (MHA) 培地に IPM 8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ とリファンピシン 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を添加して作製した。Mueller-Hinton broth (MHB) 培地に一晚振盪培養した供与菌と受容菌の菌液を 1:10 の割合で混合し、その混合液をメンブランフィルター(0.45 μm)に通して、MHA 上 37°C で一晚培養した。フィルター上に発育した菌を MHB に懸濁させ、希釈液を選択培地に広げた。選択培地上に発育したコロニーを 48 時間後に数えて伝達株数を求め、供与菌数あたりの伝達頻度を算出した。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* 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」

① A 県の慢性期中規模病院(1 施設)の障害者病棟に入院中の患者 27 名を対象とした。調査は当施設の倫理委員会の承認および家族の同意を得た後に実施した。

② B 県の療育センター(1 施設)に入所中の重症心身障害児 14 名と幼稚園に通園する健常児 31 名を対象とした。調査は保護者から同意を得た後に実施した。

検体採取にはスクリーニング用日和見感染菌検査キット(BML 社)を使用した。採取時間は、①の対象者は午後 3 時前後、②の

対象児は昼食 1 時間前とし、滅菌スワブを用いて、対象者(児)の左側上顎臼歯部 5・6・7 番相当部および頬側歯頸部を 5 往復擦過した。採取した検体はカルチャー用滅菌チューブに挿入して専用の輸送封筒に入れ、室温にて BML 社に送付した。検査対象菌は MRSA (methicillin resistant *Staphylococcus aureus*), MSSA (methicillin sensitive *S. aureus*), *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, β 溶血性 *Streptococcus* 属の 9 種とし、BML 社に分離・同定と簡易定量を委託した。検体採取後 48~72 時間以内に、スワブ検体を 5 種類の培地に塗布し、24~48 時間、炭酸ガス培養後、コロニーを釣菌し、同定を実施した。また、スワブ全表面を回転させて培地に塗りつけ、白金耳による希釈画線培養を実施し、概算菌数を 3 群に分けた(+ : 10^3 , ++ : $10^3 \sim 10^5$, +++ : 10^5 cfu/mL)。

「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」

1. 口腔ケア実施による口腔細菌の飛散状況の確認

市井の病院に入院中の要介護高齢者を対象にして、口腔ケア実施後の口腔細菌の飛散状況を調べた。0.002% クロロヘキシジン溶液、あるいは水道水で 30 秒間含嗽させた後、約 10 分間、歯科衛生士によって専門的ブラッシングを行った後の、患者の口腔内、胸、膝、歯科衛生士の顔面、胸、そして診療台周囲の壁(左右)に飛散した口腔細菌の量を定量 PCR によって調べた。また、生菌の量も推量するために、市販の

キットを用いて ATP 活性も測定した。

2. 各種含嗽剤の殺菌効果の確認

岡山大学の歯学部生を対象にして、市販の含嗽剤（ネオステリングリーン[®]、GUM[®]、ピュオーラ[®]、リステリン[®]および生理食塩水）で 30 秒間含嗽させた後の口腔細菌量の経時的な変化を定量 PCR 法によって調べた。

3. 口腔細菌の検出方法の検討

口腔細菌の検出は、従来の PCR 法および培養法に加えて、Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) 法を用いて行い、それぞれの方法の感度、特異性、迅速性および簡便性について比較検討した。

4. 口腔ケア・介護歯科における LAMP 法を利用したメチシリン耐性菌検査法の有用性についての検討

被験者は岡山市内の病院に併設されたで老人介護施設に入院中の 87 名とした。被験者は口腔内のセルフコントロールが困難な高齢者（平均年齢 70.84 ± 11.52 歳）であり、定期的に歯科医師による専門的な口腔ケアを受けている。また、口腔ケア時の院内感染防止対策の一環として、対象患者の口腔内における MRSA の保有状況は培養法によってあらかじめ検査を行っていた。

MRSA として、臨床分離株 3 株ならびに SCCmec タイプ (type-I, II, III, IVa, IVc, V) の異なる 6 株 (NCTC10442, N315, N85, N2082, JCSC4744, WIS: 順天堂大学医学部細菌学教室の伊藤輝代博士から恵与) を使用した。メチシリン耐性 *S. epidermidis* (MRSE) として、臨床分離された 5 株を使用した。また、メチシリン感受

性 *S. aureus* (MSSA) として NBRC 14462, NBRC 15035, NBRC 100910, ならびに FDA 209 の 4 株を、さらにメチシリン感受性 *S. epidermidis* (MSSE) として ATCC 155, ATCC 12228, ならびに ATCC 14990 の 3 株を対照として用いた。さらに口腔内関連細菌として、*Streptococcus salivarius* JCM 5707, *Streptococcus sanguis* ATCC 10556, *Streptococcus mutans* ATCC 700610, *Enterococcus faecalis* NBRC 100481, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Actinobacillus* (*Aggregatibacter*) *actinomycetemcomitans* ATCC 29523, *Porphyromonas gingivalis* FDC 381 そして *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586 の 8 菌種を使用した。

また、LAMP 用プライマーは、遺伝子データベースに登録されている *mecA*(AB033763, D86934, AB037671, AB063172, AB063173, AB096217) ならびに *spa* (X61307, U54636, M18264, J01786) の塩基配列をもとに、the Net Laboratory website の Primer Explorer version (富士通株式会社, 東京, 日本) を用いて設計した。LAMP 法による遺伝子増幅反応は、Loopamp DNA amplification kit (栄研化学株式会社, 栃木, 日本) を用い、添付の説明書に従って行った。

LAMP 反応の目視判定は、反応後のチューブに原液を 10 倍に希釈した SYBR Green I (タカラバイオ株式会社, 大津, 日本) を 1 μl 加え、自然光下で色調の変化を判定すること、あるいは紫外線照射のもとで蛍光発色の有無を判定することによって行った。

5. 易感染患者に対する感染コントロール

の検討

岡山大学病院血液・腫瘍内科において、造血幹細胞移植を行う予定の患者を対象とした。頬粘膜上の総菌数の測定は、本院特殊歯科総合治療部の第二総合歯科診療室の易感染性患者に対して行われている口腔粘膜上総細菌量の検査結果を用いた。その測定方法の概略は、直径1cmの円内の頬粘膜上について滅菌綿棒で細菌サンプルを採取して、16S リボゾーマル RNA 遺伝子量をリアルタイム PCR 法にて定量するものである。

なお、健常者10名（本院医療従事者：男性5名、女性5名、平均年齢 30.5 ± 4.2 歳）の頬粘膜上の総細菌数も同じ方法によって測定し、実験の対照とした。

「院内感染の評価指標の細菌学的検証」 (ATPふき取り検査を用いた歯科医療環境の清浄度調査)

1. 調査対象1：歯科衛生士6名着用のフルイドシールド（液体防御）サージカルマスクプラッシュガード付（キンバリークラーク）表面
2. 調査対象2：デンタルユニット（11台；チェア上部操作ボタンパネル、照明灯、トレイ、スピットン）および診療室パソコンキーボード（6台）
3. 調査対象3：デンタルユニット（スリーウェイシリンジ）24台の給水系からの診療水、3連休明けの診療前および3分間のフラッシング後に採水した。
4. ATPふき取り検査：ATP測定器は「ルミテスターPD-20」（Kikkoman Biochemicals）とATPふき取り綿棒「ルシパックPen」

（Kikkoman Biochemicals）を用いた。調査部位（10cm x 10cm；100cm²）を滅菌蒸留水

で湿らせたルシパックPen付属の検査綿棒で拭き取って、ルシパックPenに差し込み、反応試薬と反応させた。ルシパックPenをルミテスターPD-20に挿入して、ATP量に応じて生じる生物発光量として表示されるRLU（relative light unit）値を読み取った。またアルコールウエットティッシュで清拭後の調査部位について同様にATPふき取り検査を行い、比較した。一方、デンタルユニット給水系からの診療水については10mlを遠心沈殿し、その沈殿物について測定した。

5. デンタルユニット給水系からの診療水の細菌培養検査：採水した診療水100μlを水環境中の生菌数測定培地であるR2A寒天培地に塗布して30℃で7日間培養して、培養コロニー（CFU/ml）を計測した。大腸菌の有無はウォーターサンプラー（ミリポア）で検査した。

C. 研究結果・考察

「デンタルユニット内循環水を用いた汚染防止システムの標準化の検討」

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。過酸化水素水使用デンタルユニットを使用し始めてから10か月後まで、給水内従属細菌が検出されなくなったが、水道水を使用したデンタルユニットでは6か月ぐらいから30~220CFU/mlの従属細菌が検出されるようになった。給水系に過酸化水素水を使用する方法は、明らかに微生物汚染を減少させる有効な方法であると考えられた。今後、10か月以上の観察を行い、コントロールとの比較から、給水系除菌の有効な方法および微生物検出量の基準値等の開発が可能となってくると

考えられる。

「歯科診療における院内感染対策の意識調

1. 回答者の背景

男女差や標榜科の差はないが某E県の方が某A県よりも若い歯科医師が多く含まれている。

2. HIV, AIDS 感染者に関する意識

某A県の方が、某E県の歯科医師よりもHIV, AIDS 感染者の歯科治療を受け入れる意識は高い。それは、自分の歯科診療所以外で行う意識が高い。某A県は、実際にHIV, AIDS 感染者が多く、治療する機会多いことが影響していると考えられる。いままでの研究成果では、若い歯科医師の方がHIV, AIDS 感染者を受け入れる意識が高いはずだが、若い歯科医師の多い某E県は某A県よりもHIV, AIDS 感染者受け入れ意識が低いのは上述した理由からだろう。しかし、某A県の歯科医師はHIV 感染者の歯科治療を拒否することはモラル的によくないと思っている一方、自院で行うことに他の患者が来なくなることをより恐れている。現実問題を反映した結果でと考える。よって、某A県の方が某E県よりも現実的に考え、HIV 感染者の歯科治療の意識が高まっていると考えられる。

3. 医療法改正などに関する意識

医療法改正、診療報酬改正、自院の感染対策の評価において某A県と某E県で大きな差が見られなかった。いずれにしても、大きな影響を与えていないという結果であった。

4 知識に関して

知識の多くの項目において、某A県の方が某E県よりもよい傾向が認められた。HIV, AIDS 感染者に関する意識と同様に、実際にHIV, AIDS 患者が多いことがこのような知識の高まる結果に繋がったのかもしれない。

5. 行動に関して

防護用メガネの着用は某A県および某E県と大きな差が認められず、感染対策のスタッフへの教育は某E県の方が某A県よりも高い傾向を示した。それら以外の項目は、某A県の方が某E県よりも高い傾向を示した。特に研修会への参加は某A県で66.3%と某E県の42.8%に比べ著しく高い数値を示し、知識やHIV 感染者の歯科治療の意識が高いことに研修会への参加率が高いことも影響していることが考えられた。

以上の某A県と某E県の結果により、若い年齢の歯科医師が多いことが必ずしも院内感染対策に対する意識が高くまた行動に移しているとは言えないことが明らかとなった。むしろ、HIV, AIDS 患者の多いことによる意識の高まり、歯科医師会などの研修会開催とその参加率の上昇などが強く影響していることが考えられる。医療法改正や保険点数改正は、平成20年度時では大きな影響を与えていないことが考えられた。

6. 法改正による感染対策に対する意識とそれに関わる項目の検討

若い歯科医師が多いにも関わらず院内感染対策の意識、知識、行動が某A県よりも低い某E県の歯科医師において、医療法改

正による意識がどのような傾向にあるのか検討を行った。研修会の効果が出ていない地区で検討することにより、介入の少ない状況で何が大きく影響しているのかより明確になるのではないかと考え某 E 県で行うことにした。その結果、医療法の改正により感染対策に関して意識があまり変わらない歯科医師が 40% を占めた。やや変わった歯科医師を含めると約 70% の歯科医師が、大きな影響を受けなかったことになる。法改正そのものを知らない歯科医師が、約 20% いたことは驚きであった。

一方、口腔外科の標榜、スタンダードプリコーションの理解、患者ごとのハンドピースの交換などは、医療法の開催に影響を受けている回答の割合が高まっている。

7. 診療報酬改定で外来診療環境加算に対する口腔内バキューム設置に関する意識変化とそれに関わる項目の検討

診療報酬の改定において口外バキュームの設置に関する回答で、未定である歯科医師が半数以上を占め、設置に関してポジティブに考えている歯科医師は、約 35% にとどまった。これは、口外バキュームの必要性がまだ認識されていないことが考えられた。

口腔外科の標榜、スタンダードプリコーションの理解、患者ごとのハンドピースの交換などは、口外バキュームの設置に関してポジティブに考える回答の割合が高まっている。

8. 自分の診療所の感染対策の評価に対する意識とそれに関わる項目の検討

自分の診療所の感染対策の評価に関して

普通と答えている歯科医師の割合は半分の 50% で、その他は均等に分散していた。口腔外科の標榜、スタンダードプリコーションの理解、患者ごとのハンドピースの交換に加え口外バキュームの設置、一日の患者数 46 人以上も、自院のいい院内感染対策がよく出来ている意識に繋がっていることが明らかとなった。知識、技術、行動、経済的な余裕が絡み合っ、院内感染対策のでき具合に関わってきている。

「バイオフィルム形成菌および形成指標の開発」

MBL 産生緑膿菌は菌自体の伝播・拡散だけでなく、プラスミドを介した MBL 産生遺伝子の菌株・菌種間の伝達が問題となる。PFGE 解析では菌株間の相同性を捉えることはできるが、プラスミド性耐性遺伝子の拡散を捉えることはできない。バイオフィルム形成能の高い菌株は、環境中に長期に生息し、複数の菌株・菌種により形成されたバイオフィルム内部で薬剤耐性遺伝子を伝達する可能性がある。比較的伝達頻度が低い ($10^{-7} \sim 10^{-9}$) 接合伝達 (推測) 株は、供与菌が混在している可能性を否定できないため、本研究では伝達頻度の高い株も含めて 24 株の接合伝達 (推測) 株の PFGE 解析を実施した。その結果、受容菌と同一パターンかつ PCR 法により耐性遺伝子の存在が確認できた接合伝達株が 18 株あり、これらの株については供与菌から受容菌への *bla*_{IMP-1} 遺伝子の伝達が確定できた。そのうち伝達頻度が低い 13 株では、染色体上にコードされている耐性遺伝子の伝達が推測された。

*bla*_{IMP-1} 遺伝子の伝達頻度が比較的高い 9 株中 6 株 (66.7%) が尿路由来株であった。

緑膿菌性尿路感染症はいわゆる緑膿菌保菌者となるケースが多く、緑膿菌性尿感染症の多くが留置カテーテルに関与していることから院内感染の汚染源となり、MBL産生緑膿菌を院内で拡散させる危険性は高い。また、耐性遺伝子を拡散させる可能性も高い。緑膿菌は湿潤環境に定着しやすく、汚物処理室のシンクから MBL 産生緑膿菌が検出されたとの報告もある。尿に限らず便や喀痰などの排泄物も院内感染の汚染源になることに注意し、医療・療養環境の管理を行うことが重要である。MBL 産生緑膿菌はプラスミド性耐性遺伝子を保有していることから、徹底した院感染対策を実施することが求められている。今後の課題として、薬剤耐性遺伝子の拡がりを捉えるために、プラスミド解析やインテグロン構造解析など検討していく必要がある。

昨今、院内感染対策上監視すべき薬剤耐性菌として、ESBL(基質特異性拡張型βラクタマーゼ)産生菌が問題となっている。MBL 産生緑膿菌と同様、プラスミドを介したESBL 産生遺伝子の菌株・菌種間の伝達が問題となる。特に、ESBL 産生大腸菌の分離頻度は高い。我々の検討において、尿路由来大腸菌のなかに、バイオフィルム形成能の高い菌株を見出しており、環境中に長期に生息している可能性がある。

「院内感染における薬剤耐性菌の評価指標の開発」

本研究課題では数年間にわたり5群の対象者(児)別、①急性期大規模病院に治療目的で入院した誤嚥性肺炎患者、②気管内吸引を必要とする在宅療養患者、③療育センター入所中の重症心身障害者(児)、④慢

性期中規模病院の障害者病棟に入院中の患者、⑤健常児、に歯垢内日和見病原菌の検出状況の実態調査を行った。

本年度調査を行った慢性期中規模病院の障害者病棟に入院中の患者は、長期に尿路カテーテルを留置していた。患者の平均年齢は75.9±16.4歳、基礎疾患は遷延性意識障害や頸髄損傷等であり、いずれも日常生活動作が著しく低下した患者であった。全員に細菌尿が確認され、主要分離菌は*P. aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*であり、3菌種とも19%の分離頻度であった。複数菌種が分離された患者は76.0%であった。歯垢からの主要分離菌は*P. aeruginosa*, *S. marcescens*, MRSAであり、分離頻度はそれぞれ59.3%, 33.3%, 33.3%であった。

昨年度調査を行った療育センター入所中の重症心身障害者(児)においても、歯垢からの主要分離菌は*P. aeruginosa*, MRSA, *S. marcescens*であり、分離頻度は、それぞれ25.0%, 25.0%, 8.9%であった。療育センター入所中の重症心身障害者(児)56名は、上下肢の麻痺や痙攣、強度の硬直、知的障害などにより、全員が自分で口腔清掃を行うことができなかった。しかし、56名中45名は主にデイルームで介護を受けていることから、慢性期中規模病院の障害者病棟に入院中の患者に比較して要介護度は低かった。このことが、主要分離菌3菌種の分離頻度が低いことに関連していると考えられた。ただし、慢性期中規模病院の障害者病棟に入院中の長期尿路カテーテル留置患者全員に細菌尿が確認されていることから、尿中細菌と歯垢内細菌との関連性についても検討が必要であり、今後の課題である。

重症心身障害児および健常児の歯垢内日和見病原菌の検出状況に関する比較検討においては、障害児が 14 名中 11 名 (78.6%)、健常児が 31 名中 2 名 (6.5%) であり、障害児の保有率が顕著に高かった。

本年度に論文化した「重症心身障害者(児)の歯垢内日和見病原菌の検出状況を指標とした口腔ケアの評価」においては、口腔ケア方法を変更することにより、歯垢からの検出菌種と菌数の減少に一定の効果を認めたと、緑膿菌の除菌は困難であった。本研究課題において遂行した 4 群の対象者(児)の実態調査において、歯垢からの緑膿菌の分離頻度は高く、新たな口腔ケア方法の開発が求められる。

「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」

歯科医療の重要性と需要が高まっている口腔ケアや歯科介護医療や訪問歯科診療現場では、十分な細菌学的検査を行うための設備を期待することはできない。また、入院患者の口腔内からの MRSA は高頻度に検出されることが報告されているとともに、院内感染対策の立場からベッドサイドや歯科チェアサイドでの迅速検査の要求度が高くなっている。このような現場において、確立した LAMP 法検査は高い有用性を示すものと考えられる。さらに口腔ケアや介護歯科医療の現場では、プラークが感染コントロールの主な対象となることから LAMP 法を応用した *mecA* ならびに *spa* の検出検査は有効活用できると考えられる。

造血器悪性疾患患者は immunocompromised host の典型例の一つであり、その治療に際しては常在細菌、真菌等によ

る重篤な日和見感染の合併が少なからず認められる。また、同種造血幹細胞移植は、造血器悪性疾患の治療を志向した治療において中心的位置を占めるに至り、その症例数は増加の趨勢にある (Shlomchik WD, *Nat Rev Immunol*, 2007)。

同種造血幹細胞移植は、移植前処置による骨髄抑制によって著しい好中球減少を来すだけでなく、移植片対宿主病 (Graft-versus-host-disease: GVHD) の予防および治療目的で投与される免疫抑制剤の作用によって、通常の化学療法に比較して重度かつ長期間の免疫不全状態を招来する。移植関連毒性を軽減し治療成績の向上・適応の拡大を図る試みとして、細胞毒性の少ない同種ミニ移植も開発されているが、移植細胞の拒絶を防ぐための強力な免疫抑制療法を必要とするため、日和見感染の危険性は依然として高い。昨今、同種造血幹細胞移植症例数の伸びとともに、従来、重要視されてきた重篤な日和見感染に関する報告が増加しつつあるが、その対策は未だ十分とはいえない。したがって、造血幹細胞移植患者における局所の感染コントロールは、日和見感染予防のため非常に重要な課題である。移植後、白血球数が回復し始めるまでの約 3 週間は、とりわけ感染管理が重要な時期であるが、なかでも感染源になり得る口腔と肛門周囲には細心の注意を払う必要がある。さらに、強力な治療や GVHD などで口腔粘膜に糜爛・潰瘍などの粘膜障害が発症し耐え難い疼痛が生じることも移植患者にとって苦痛になる。

歯科受診の患者は医療・医学の進歩に伴って多様化している。このことは、歯科医療の現場における感染対策も

多様化せざるを得ないことを示すものである。今後、歯科医療における院内感染対策の評価指標の開発が重要な課題として考えられるが、本研究の成果が将来の我が国の厚生労働行政の政策の一助になることを望む。

「院内感染の評価指標の細菌学的検証」
(ATP ふき取り検査を用いた歯科医療環境の清浄度調査)

ATP ふき取り検査は、細菌培養法や PCR 法に比べて、簡便で迅速 (10 秒) に清浄度が検査できる方法であり、目視だけの清浄度確認の不十分さを補うことができる。ひとつの欠点としては細胞を溶解して ATP-ルシフェリン・ルシフェラーゼ反応によって生じる生物発光 (バイオルミネッセンス) 量を測定するので、細菌培養ができず、菌種 (病原性の有無) の特定などできないことがあげられる。一方、検査値は生菌/死菌に加えてヒト手指や体液 (唾液、汗、鼻汁、血液など) 由来の汚れも反映している。これらの汚れは、細菌増殖の温床になるばかりでなく、細菌培養法では検査できないウイルス (インフルエンザウイルスやノロウイルスなど) の媒体としても懸念されるので、ATP ふき取り検査は清浄度の指標として評価されている。ちなみに、調理場の管理基準として調理台は 200 RLU (100cm²)、まな板および冷蔵庫内部 (100cm²) は 500 RLU などの値が推奨されている。また、病院清掃管理の改善のため ATP ふき取り検査と細菌検査の併用が提唱されており、その管理基準は 500 RLU (100cm²) または 250 RLU (100cm²) とされている。これに比較すると、検査したデンタルユニット周囲の RLU

値は著しく高い値を示し、歯科診療時には歯科医療従事者のみならず、デンタルユニット周囲に患者の唾液や血液や病巣切片などが飛散している状況が ATP ふき取り検査によって明らかとなった。

また、デンタルユニット給水系内部には細菌バイオフィームが形成され、除菌が困難である。そのため、現在は診療前のフラッシングによって診療水に含まれる細菌数を減少させるという対策を講じているのが現状である。そこで診療水の水質検査へ ATP ふき取り検査の適用を試みた。細菌細胞あたりの ATP 量 (10^{-18} オーダー (mol/ cell)) と「ルミテスター PD-20」の検出感度 (10^{-14} ~ 10^{-16} オーダー (mol/綿棒)) の関係から、測定のために「ルシパック Pen」の綿棒には給水系に含まれる 1000 個程度以上の細菌が必要となる。そのため、診療水についての ATP ふき取り検査では 10ml を遠心沈殿し、その沈殿物について RLU 値を測定したが、水質検査の細菌培養法と比較すると検出感度を含めて改良が必要であろう。

2007 年 4 月から施行された改正医療法では、歯科診療所にも医療安全管理指針が義務付けられ、院内感染対策の整備が重要視されている。簡便で迅速な「ATP ふき取り検査」を用いた歯科診療環境の清浄度調査は院内感染対策のひとつとして今後、活用されていくと考える。

D. 結論

「デンタルユニット内循環水を用いた汚染防止システムの標準化の検討」

今回の過酸化水素水を含め多くの種類の除菌剤も検討しよりよいユニット給水系における統一したデンタルユニットチェアー

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」

若い年齢の歯科医師が多いことが必ずしも院内感染対策に対する意識が高く行動に移しているとは言えない。むしろ、HIV、AIDS 患者の多いことによる意識の高まり、歯科医師会などの研修会開催とその参加率の上昇などが強く影響していた。

平成19年4月より医療法や平成20年4月の診療報酬改定による影響および自医院の院内感染対策の高い評価は、口腔外科の標榜、スタンダードプリコーションの理解、患者ごとのハンドピースの交換、患者人数と関係していることが明らかとなった。

口腔外科という特別な研修を受けたバックグラウンドを持つ歯科医師、スタンダードプリコーションという知識を身に付けた、歯科医師、コストのかかる患者ごとのハンドピースの交換や患者人数が多いなど経済的に余裕のある歯科医師において、意識の変化が見られたことから、かなりハードルの高い項目でなければ、変動を与えないと考えられた。卒後研修内容のハードルを高める必要があると考えられた。

平成19～20年度の研究成果と本年度の研究成果を合わせて院内感染対策を普及させるため方法として以下が考えられた。

1. 講習会への参加、スタッフへの教育、防護用めがねの着用、グローブの使用、問診票の作製、感染対策マニュアルの作成など簡単な項目を先に到達させる。

2. スタンダードプリコーションについ

ての再教育、口腔外科などの再実習、患者ごとのハンドピースの交換の徹底および口外バキュームの設置。

3. 月1度の診療前のデンタルユニット給水における微生物検査、診療前のデンタルユニット内の除菌処置、診療終了後のデンタルユニット周囲の機器上の微生物汚染検査、診療終了後のデンタルユニット周囲の機器上の微生物汚染処理

1. 2. 3のステップを踏んで、院内感染対策を導入していくことが効果的である。

「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、バイオフィームを形成させないための方策を講じる必要がある。

「院内感染における薬剤耐性菌の評価指標の開発」

医療現場において、バイオフィーム形成能の高い菌種 (*P. aeruginosa* や *S. marcescens*) の除去を目的とした口腔ケアは喫緊の課題であり、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」

LAMP法は従来の検査法に比べ迅速性と簡便性にすぐれており、口腔ケアや介護歯科医療現場で有用性の高い細菌検査法として応用できる可能性が示唆された。

さらに、造血幹細胞移植期の患者では、

口腔粘膜の保湿度は有意に低下しているため、唾液代替剤の使用は造血幹細胞移植期の口腔内感染管理として有効な一つの方法であることが示唆された。

「院内感染の評価指標の細菌学的検証」
(ATP ふき取り検査を用いた歯科医療環境
の清浄度調査)

「ATP ふき取り検査」によって簡便かつ迅速に歯科医療環境の清浄度を測定することができた。この「ATP ふき取り検査」を用いての歯科医療環境のモニタリングは院内感染対策に有用であろう。

研究成果発表

論文発表

1. Erika Inaba, Hiroshi Uematsu, Yoshihide Nishiyama, Haruo Watanabe, and **Hidenobu Senpuku**. The role of anti-PAC (361-386) peptide SIgA antibody in professional oral hygiene of the elderly. *Gerodontology*, 26(4):259-267. 2009.
2. Shohei Tamura, Hideo Yonezawa, Mizuho Motegi, Ryoma Nakao, Saori Yoneda, Haruo Watanabe, Tsuneyoshi Yamazaki and **Hidenobu Senpuku**. Inhibiting effects of *S. salivarius* on CSP-dependent biofilm formation by mutans streptococci. *Oral Microbiology and Immunology*. *Oral Microbiol Immunol*. 2009 24(2):152-61.
3. Hidehiko Koba, Kentaro Okuda, Haruo Watanabe, Junji Tagami and **Hidenobu Senpuku**. Role of lysine in interaction between surface protein peptides of *Streptococcus gordonii* and agglutinin peptide. *Oral Microbiology and Immunology*. 2009 24(2):162-9.
4. Taisuke Fujibayashi, Moriyuki Nakamura, Akira Tominaga, Norifumi Satoh, Taketo Kawarai, Naoki Narisawa, Osamu Shinozuka, Haruo Watanabe, Tsuneyoshi Yamazaki, and **Hidenobu Senpuku**. Effects of IgY against *Candida albicans* and *Candida* spp. adherence and biofilm formation. *Japanese Journal Infectious Diseases*, 2009 62: 337-342.
5. 泉福英信、河原井武人、唾液 IgA と常在細菌叢、臨床検査、2009, 53: 829-833.
6. Wada K, **Kariyama R**, Mitsuhata R, Uehara S, Watanabe T, Monden K, **Kumon H** : Experimental and clinical studies on fluoroquinolone-insusceptible *Escherichia coli* isolated from patients with urinary tract infections from 1994 to 2007. *Acta Med. Okayama* 63 (5): 263-272, 2009.
7. 狩山玲子、公文裕巳: バイオフィルム感染症 臨床編「泌尿器感染症とバイオフィルム」. 臨床と微生物 36(5): 445-449, 2009.
8. 山本満寿美、狩山玲子、光畑律子、石井亜矢乃、上原慎也、渡辺豊彦、公文裕巳: 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 *bla_{IMP-1}* 遺伝子の伝達性に関する検討. *Bacterial Adherence & Biofilm* (印刷中)
9. 森みずえ、山本満寿美、千田好子、狩山玲子: 重症心身障害者(児)の歯垢内日和見病原菌の検出状況を指標とした口腔ケアの評価. 日本環境感染学会誌 (印刷中)

10. Cakilci B, Tamaki N, Yamamoto T, Tomofuji T, Shimono J, Tsuneishi M, **Kokeguchi S**, Fukui K, Watanabe T.: Reduction of gingival bleeding by professional toothbrushing compared to one-stage full-mouth disinfection. *Int J Oral Health*. 5(1):17-24, 2009.
11. Tomofuji T, Ekuni D, Sanbe T, Irie K, Azuma T, Maruyama T, Tamaki N, Murakami J, **Kokeguchi S**, Yamamoto T.: Effects of vitamin C intake on gingival oxidative stress in rat periodontitis. *Free Radic Biol Med*. 46(2):163-8, 2009.
12. Ekuni D, Tomofuji T, Sanbe T, Irie K, Azuma T, Maruyama T, Tamaki N, Murakami J, **Kokeguchi S**, Yamamoto T.: Periodontitis-induced lipid peroxidation in rat descending aorta is involved in the initiation of atherosclerosis. *J Periodontal Res*. 44(4):434-42, 2009.
13. Ekuni D, Tomofuji T, Sanbe T, Irie K, Azuma T, Maruyama T, Tamaki N, Murakami J, **Kokeguchi S**, Yamamoto T.: Vitamin C intake attenuates the degree of experimental atherosclerosis induced by periodontitis in the rat by decreasing oxidative stress. *Arch Oral Biol*. 54(5):495-502, 2009.
14. Tomofuji T, Yamamoto T, Tamaki N, Ekuni D, Azuma T, Sanbe T, Irie K, Kasuyama K, Umakoshi M, Murakami J, **Kokeguchi S**, Morita M.: Effects of obesity on gingival oxidative stress in a rat model. *J Periodontol*. 80(8):1324-9, 2009.
15. Maeda T, Maeda H, Yamabe K, Mineshiba J, Tanimoto I, Yamamoto T, Naruishi K, **Kokeguchi S**, **Takashiba S**. Highly expressed genes in a rough-colony-forming phenotype of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*: implication of a *mip*-like gene for the invasion of host tissue. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 58(2):226-236, 2009.
16. Sugiura Y, Soga Y, Yamabe K, Tsutani S, Tanimoto I, Maeda H, **Kokeguchi S**, Fujii N, Ishimaru F, Tanimoto M, Nishimura F, **Takashiba S**: Total bacterial counts on oral mucosa after using a commercial saliva substitute in patients undergoing hematopoietic cell transplantation. *Support Care Cancer*. 18(3):395-8, 2010.
17. Koide Y, Maeda H, Yamabe K, Naruishi K, Yamamoto T, **Kokeguchi S**, **Takashiba S**: Rapid detection of *mecA* and *spa* by the loop-mediated isothermal amplification(LAMP) method. *Lett Appl Microbiol*. 2010, *in press*.
18. Yamabe K, Maeda H, **Kokeguchi S**, Soga Y, Meguro M, Naruishi K, Asakawa S, **Takashiba S**: Antigenic Group II Chaperonin in *Methanobrevibacter oralis* may cross-react with human chaperonin CCT. *Mol Oral Microbiol*. 2010, *in press*.
19. 佐藤法仁, 渡辺朱理, 荅口進: ATP測定法を用いた歯科医療従事者着用滅菌マスクの清浄度調査. *医学と生物学*, 第153巻, 第10号, 437-442, 2009.
20. 佐藤法仁, 渡辺朱理, 鳥井康弘, 荅口進: 医療および介護・社会福祉系専門資格の認知度に関する研究 -研修歯科医師と非医療系大学生との比較-. *医学と生物学*, 第153巻, 第11号, 540-544,