

図25 自分の診療所の感染対策の評価に対する意識

質問3 ご自分の診療所の感染対策の評価はいかがでしょう？

1:よく出来ている方だ、2:まあまあ出来ている方だ、3:普通、4:あまりできていない、5:ほとんどできていない

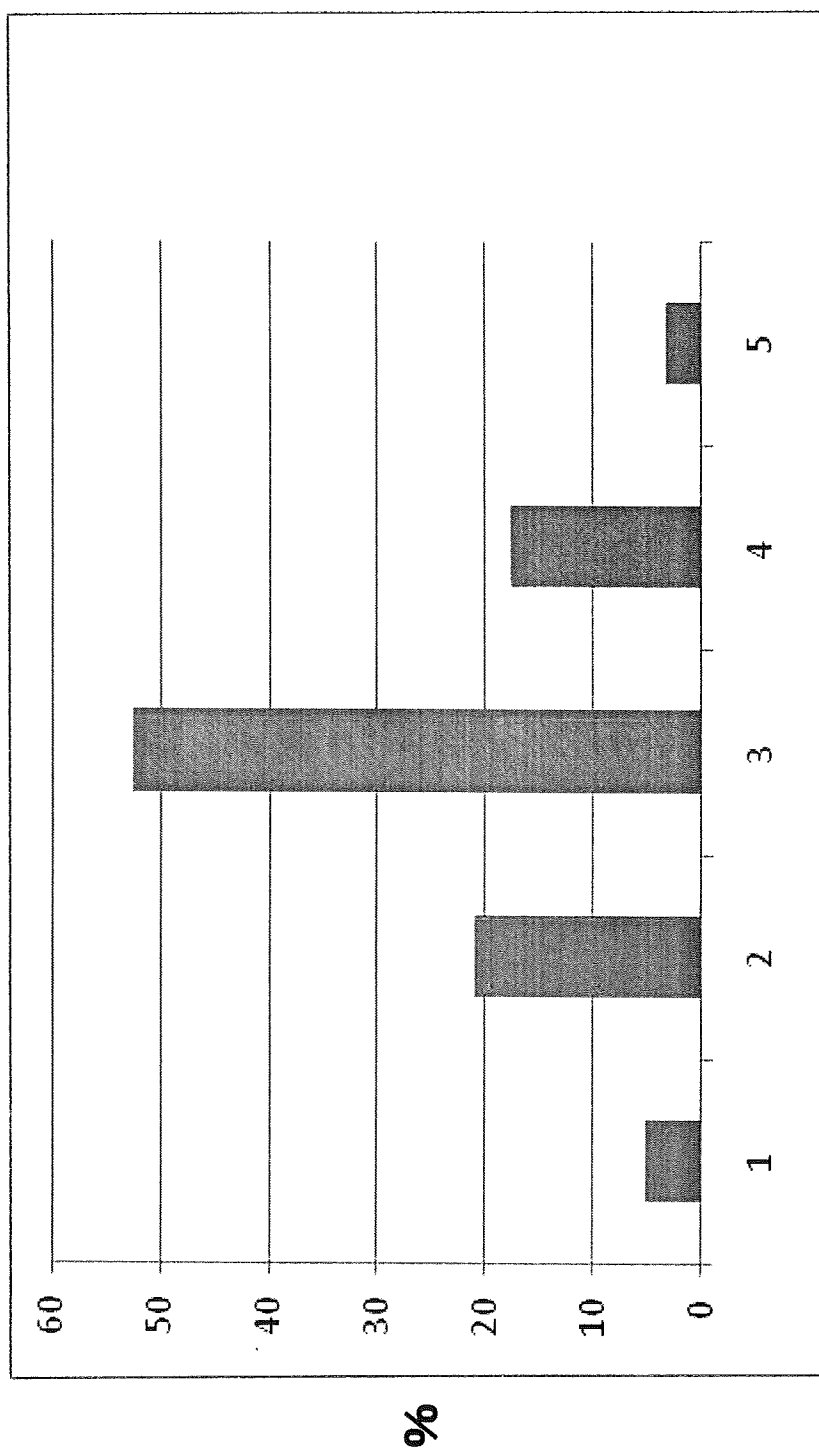


図26 自分の診療所の感染対策の評価に対する意識と口腔外科の標榜との関係

質問3 ご自分の診療所の感染対策の評価はいかがでしょう？

1:よく出来ている方だ、2:まあまあ出来ている方だ、3:普通、4:あまりできていない、5:ほとんどできていない

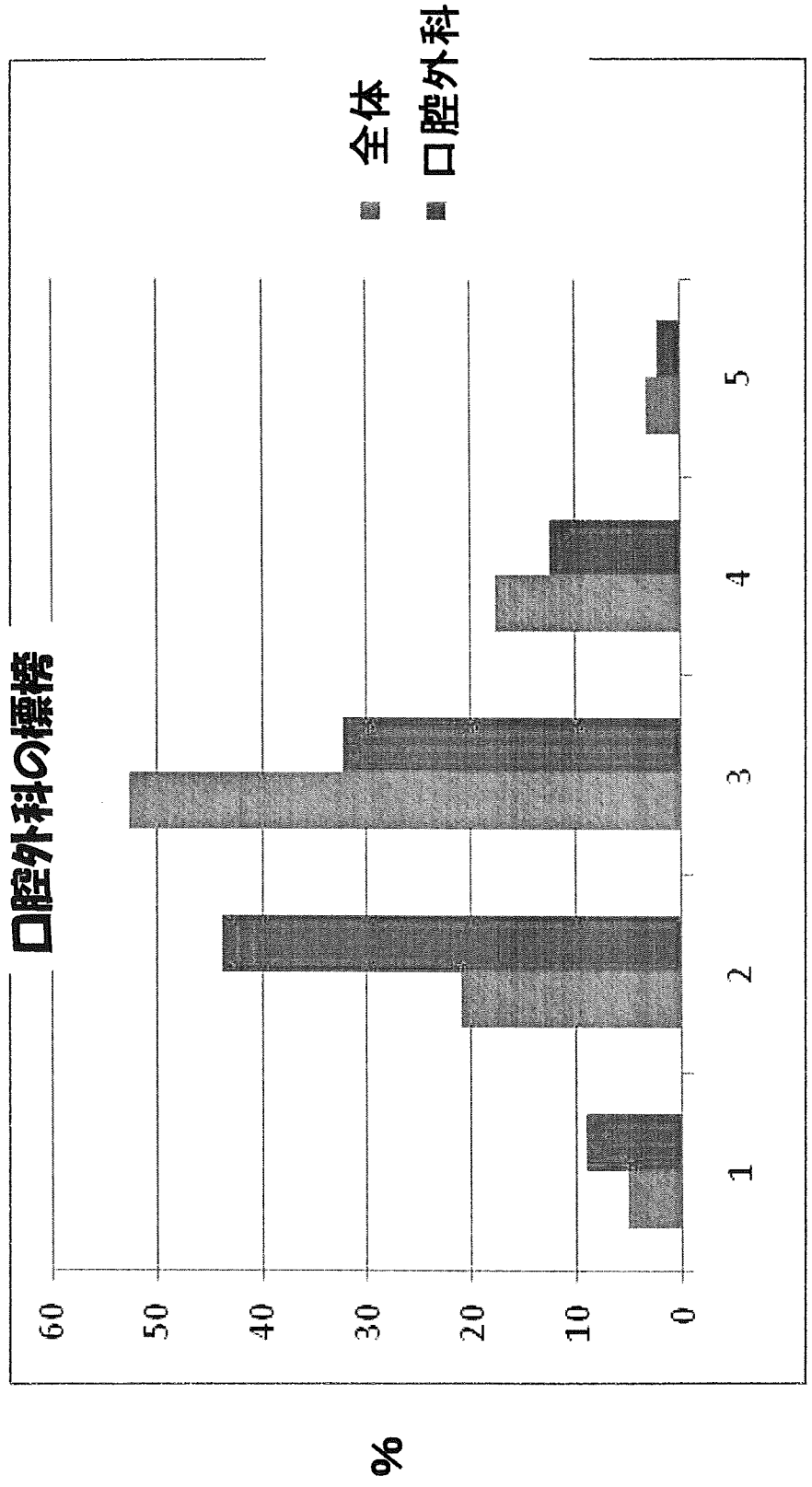


図27 自分の診療所の感染対策の評価に対する意識とスタンダードプリコーションの理解との関係

質問3 ご自分の診療所の感染対策の評価はいかがでしょう？

1:よく出来ている方だ、2:まあまあ出来ている方だ、3:普通、4:あまりできていない、5:ほとんどできていない

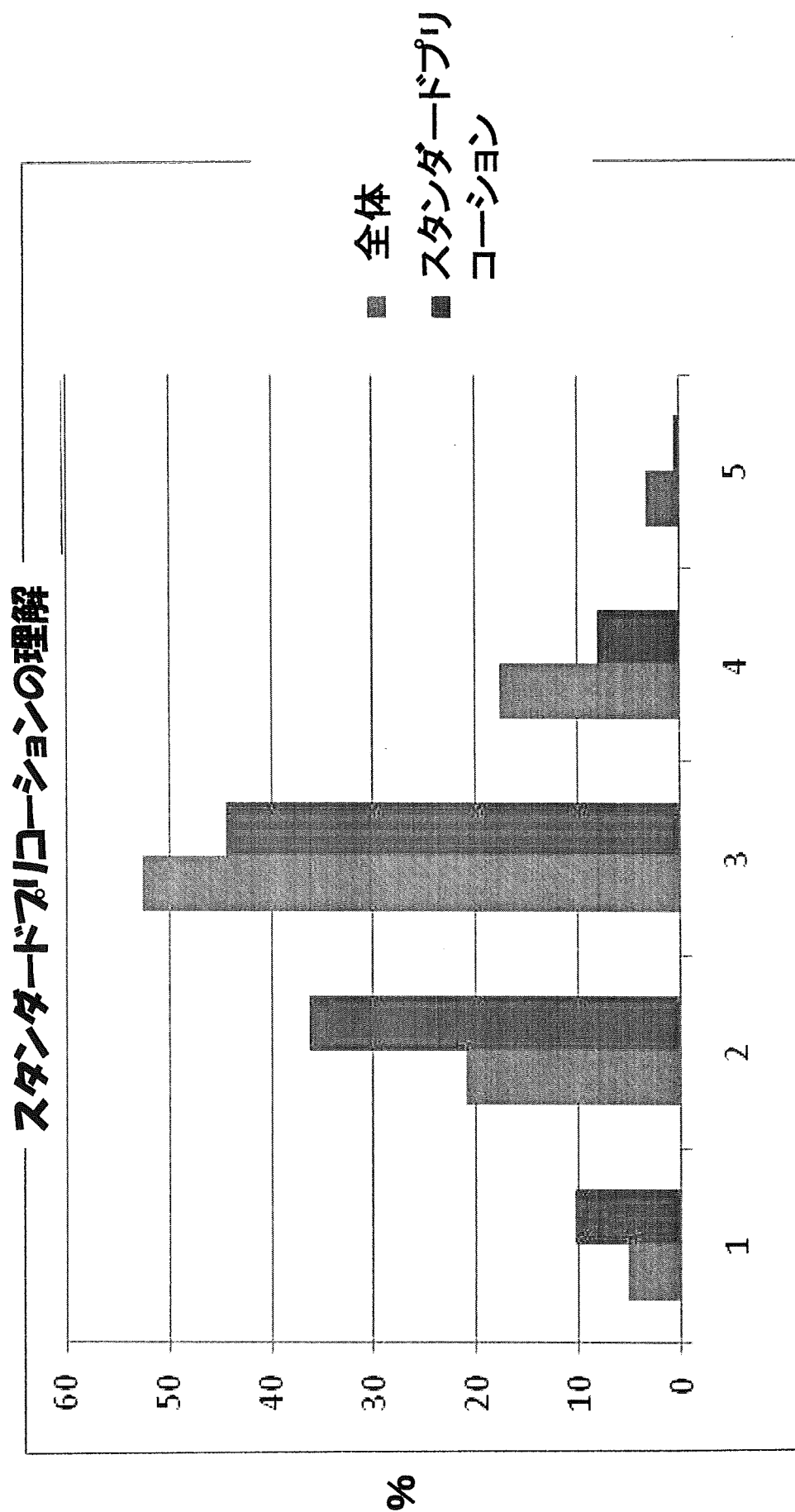


図28 自分の診療所の感染対策の評価に対する意識と患者どこハンドピースを交換
している歯科医師との関係

質問3 ご自分の診療所の感染対策の評価はいかがでしょう？

1:よく出来ている方だ、2:まあまあ出来ている方だ、3:普通、4:あまりできていない、5:ほとんどできていない

問診票の記載、防護用メガネの着用、スタッフへの教育
マニュアルの作成、研修会への参加

影響はあまりなかった。

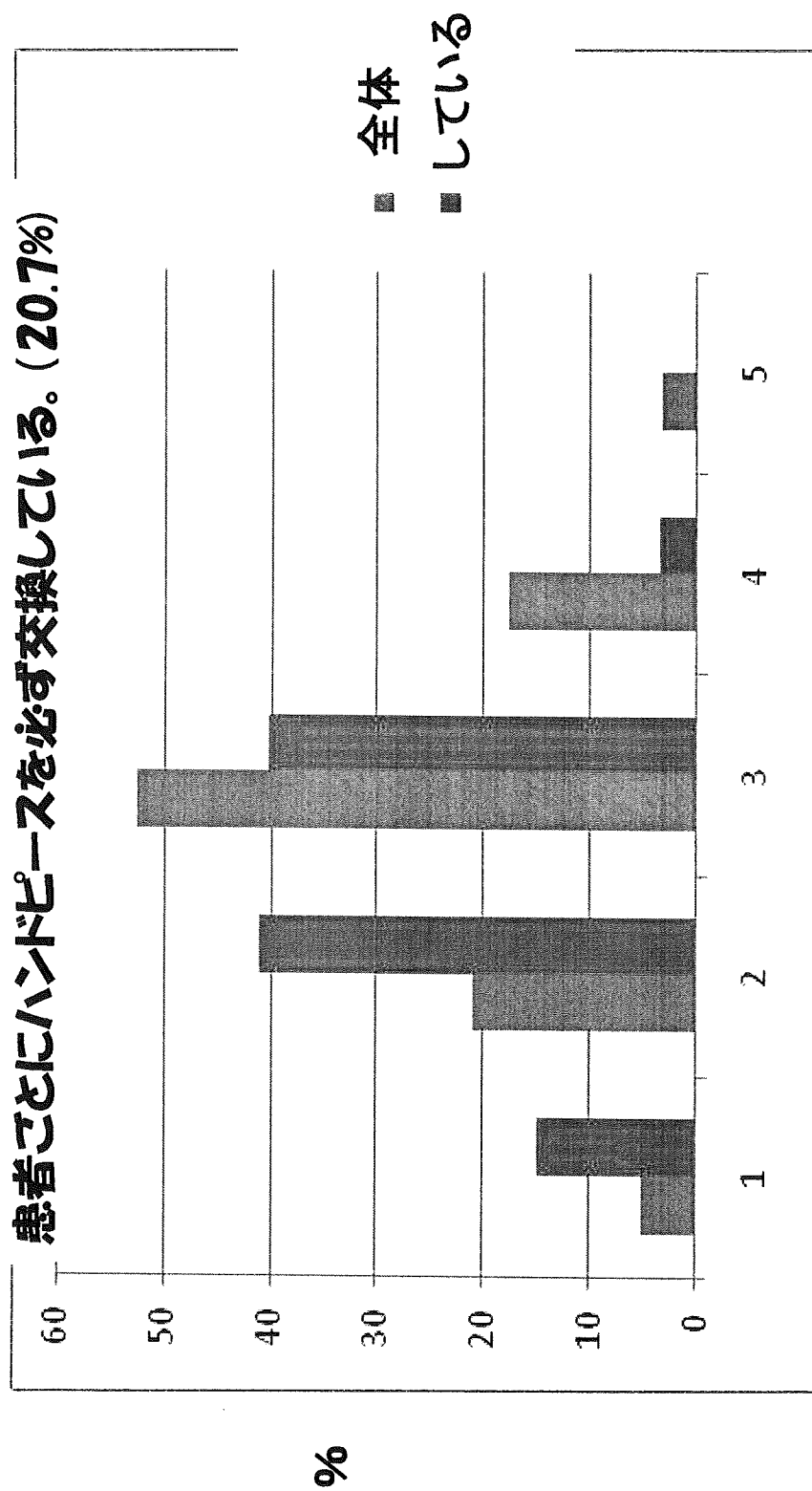


図29 自分の診療所の感染対策の評価に対する意識と患者ごとハンドピースを交換していない歯科医師との関係

質問3 ご自分の診療所の感染対策の評価はいかがでしょう？

1:よく出来ている方だ、2:まあまあ出来ている方だ、3:普通、4:あまりできていない、5:ほとんどできていない

同診票の記載、防護用メガネの着用、スタッフへの教育
マニュアルの作成、研修会への参加

影響はあまりなかった。

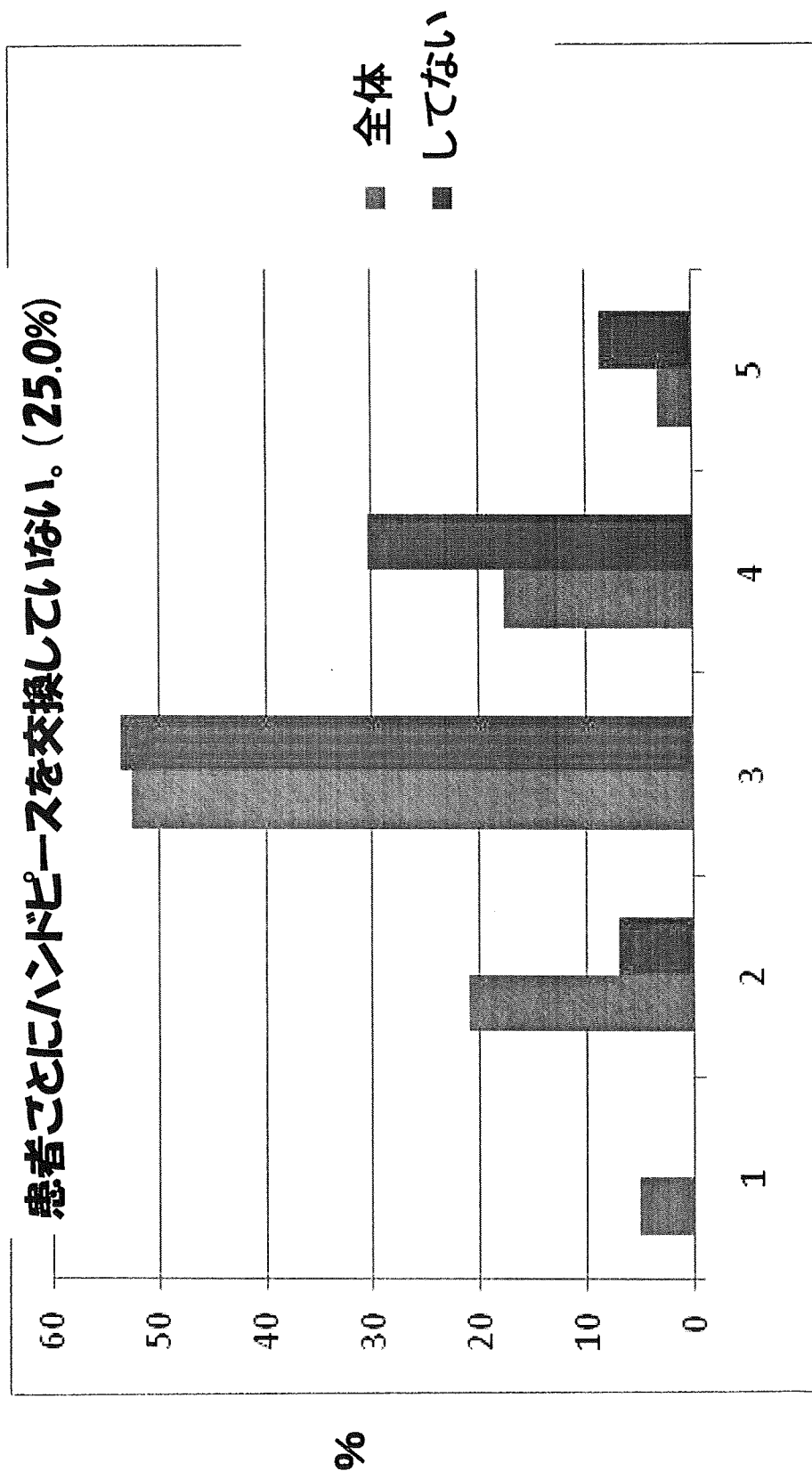


図30 自分の診療所の感染対策の評価に対する意識と口外バキューム設置との関係

質問3 ご自分の診療所の感染対策の評価はいかがでしょう？

1:よく出来ている方だ、2:まあまあ出来ている方だ、3:普通、4:あまりできていない、5:ほとんどできていない

口外バキュームの設置(25.6%)

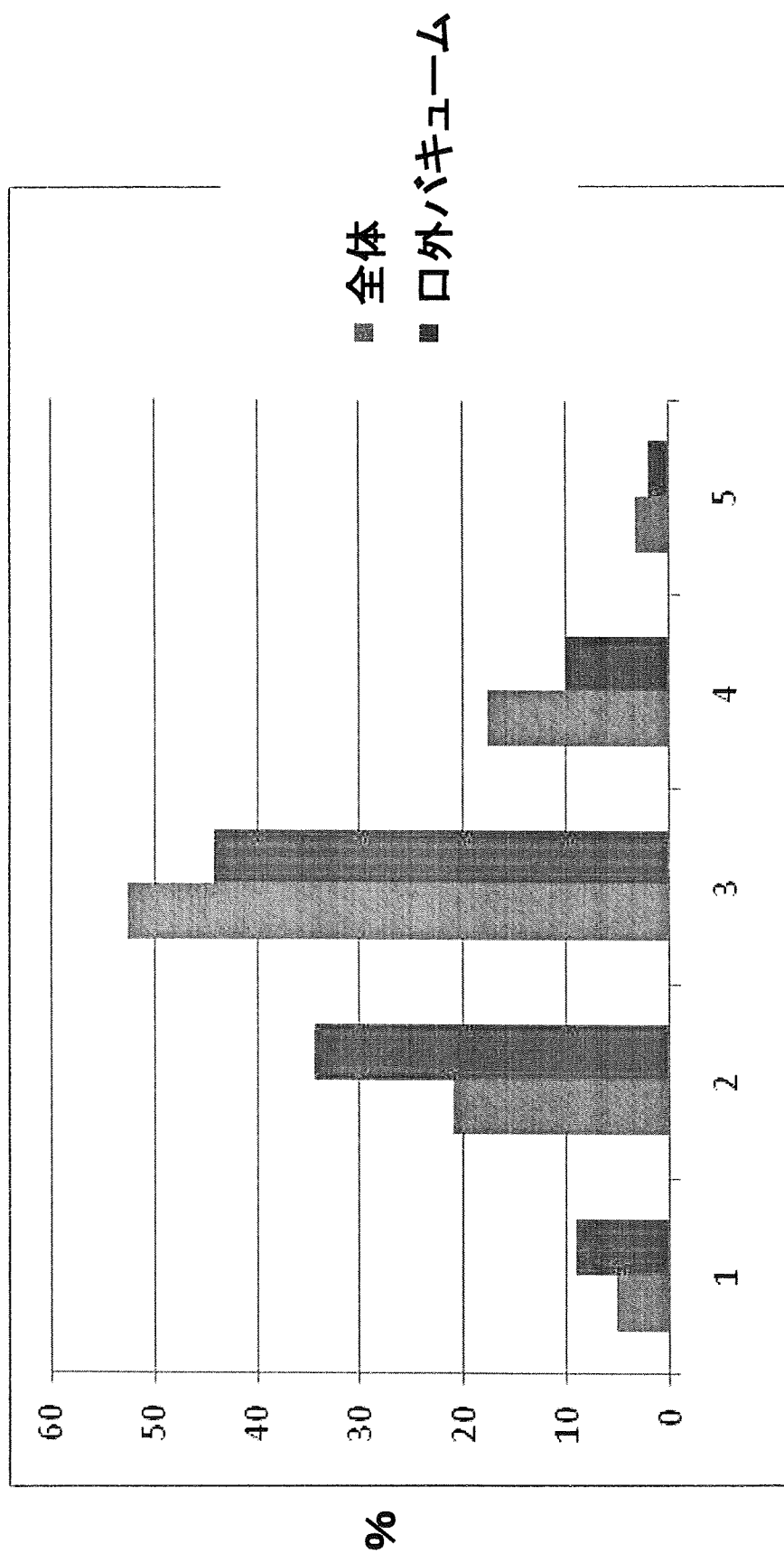


図31 自分の診療所の感染対策の評価に対する意識と一日の患者46人以上の歯科
医師との関係

質問3 ご自分の診療所の感染対策の評価はいかがでしょう？

1:よく出来ている方だ、2:まあまあ出来ている方だ、3:普通、4:あまりできていない、5:ほとんどできていない

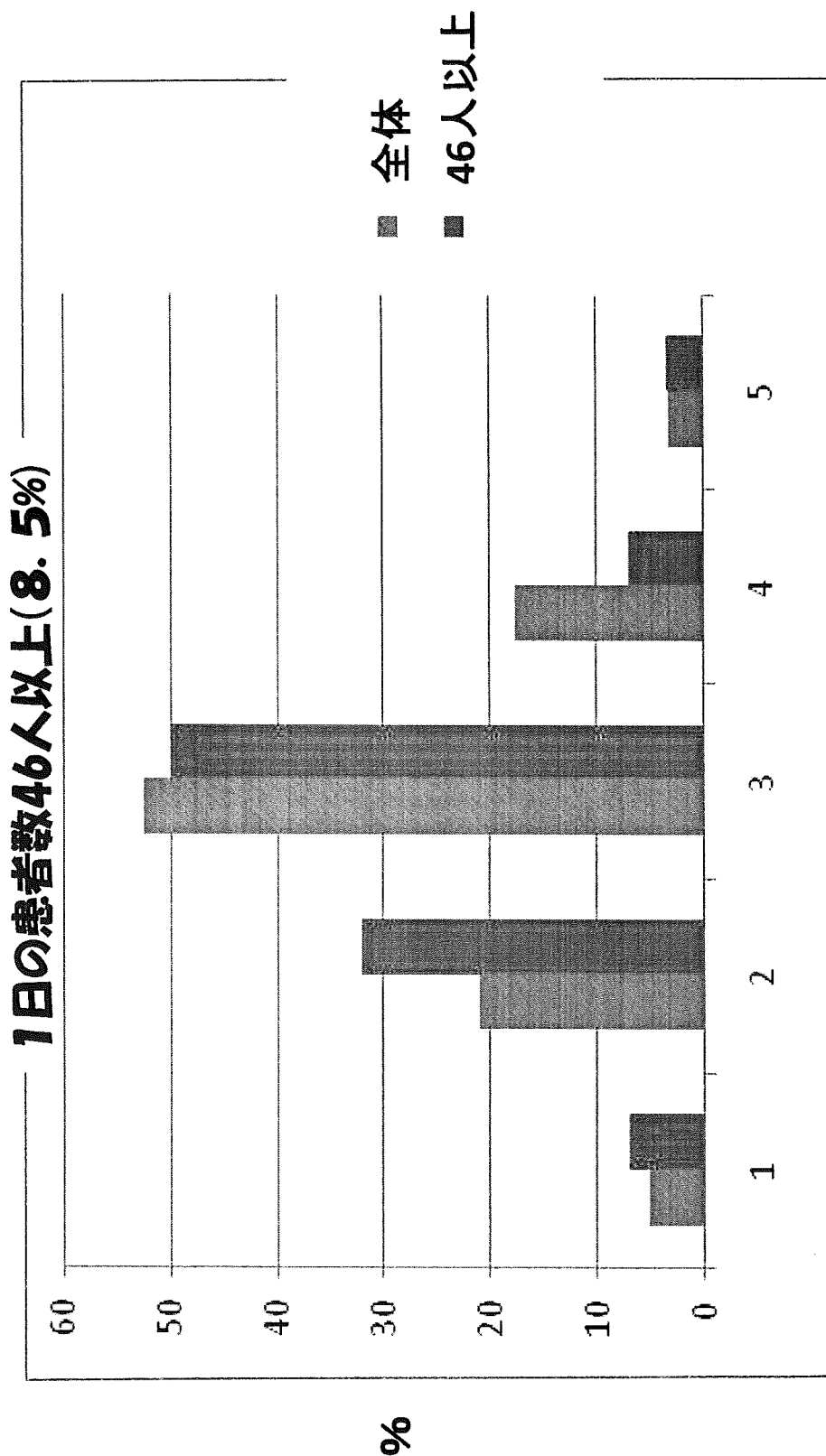
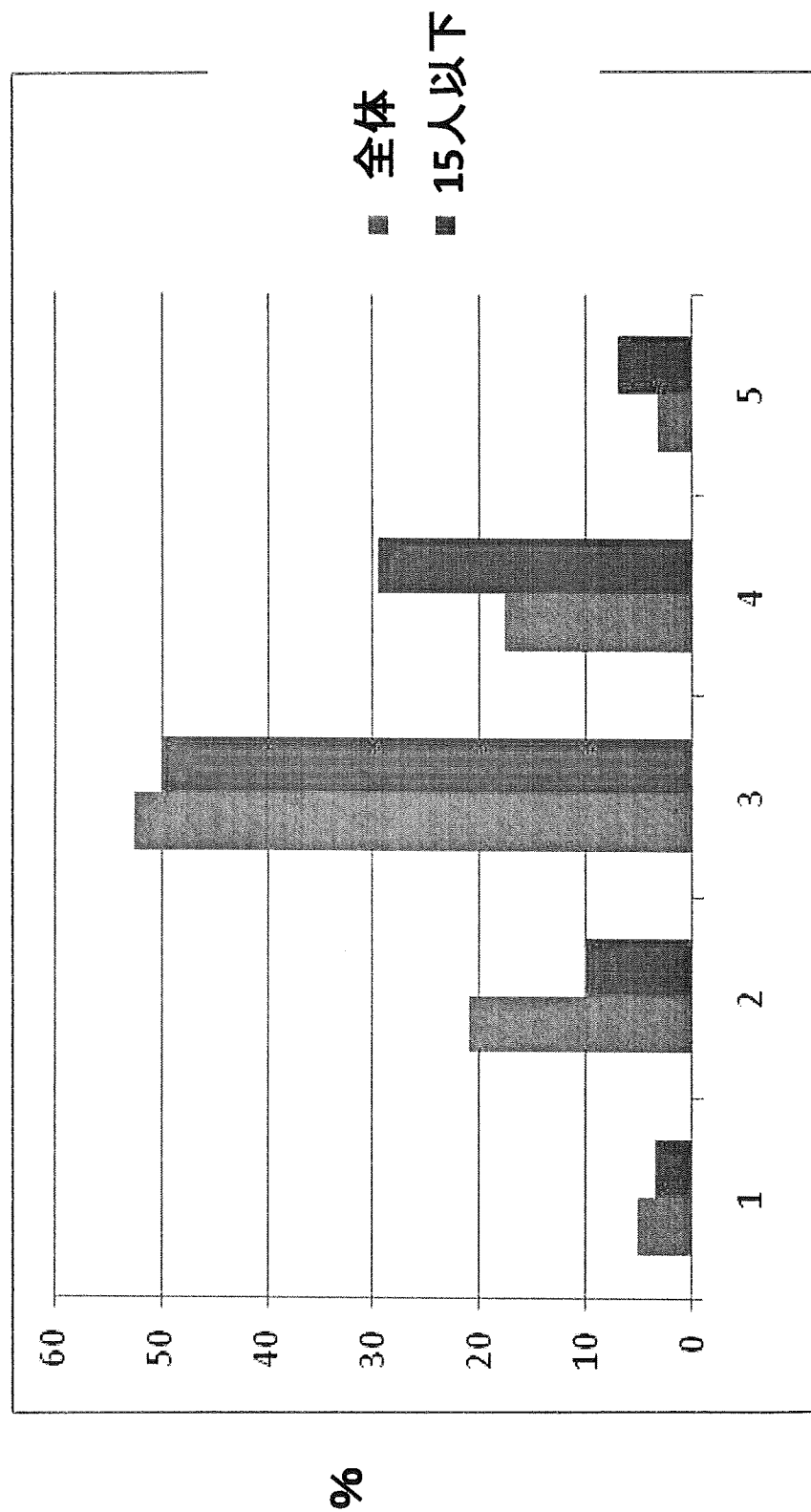


図32 自分の診療所の感染対策の評価に対する意識と一日の患者15人以下の歯科
医師との関係

質問3 ご自分の診療所の感染対策の評価はいかがでしょう？

1:よく出来ている方だ、2:まあまあ出来ている方だ、3:普通、4:あまりできていない、5:ほとんどできていない

1日の患者数15人以下(21.0%)



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)
分担研究報告書

「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」

「バイオフィルム形成菌および形成指標の開発」

研究分担者 公文裕巳 (岡山大学大学院医歯薬学総合研究科泌尿器病態学 教授)
研究協力者 狩山玲子 (岡山大学大学院医歯薬学総合研究科泌尿器病態学 助教)
山本満寿美 (岡山大学大学院医歯薬学総合研究科泌尿器病態学 研究員)
光畑律子 (岡山大学大学院医歯薬学総合研究科泌尿器病態学 技術補佐員)

研究要旨

プラスミド性の薬剤耐性遺伝子を保有するメタロ-β-ラクタマーゼ(MBL)産生緑膿菌は、ほぼ全ての抗菌薬に高度耐性を示す傾向が強く、院内感染対策上、特に留意する必要がある。そこで MBL 産生緑膿菌に着目し、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を行った。IMP-1 型 MBL 産生緑膿菌 123 株を対象とした。バイオフィルムアッセイにはマイクロプレートを用い、トリプトソイブイオン培地中のバイオフィルム形成能を定量化した。バイオフィルム高度形成群 $OD_{570} \geq 1$; 29 株(23.6%)、中等度 $1 > OD_{570} \geq 0.5$; 47 株(38.2%)、低度 $0.5 > OD_{570} \geq 0$; 47 株(38.2%)であった。フィルター法による接合伝達実験では、受容菌として *Pseudomonas aeruginosa* ML5017 株、イミペネムとリファンピシン添加の選択培地を用いた。35 株の接合伝達実験を行った結果、33 株でイミペネム耐性が伝達し、そのうち 9 株は伝達頻度が比較的高かった($10^{-4} \sim 10^{-6}$)。PCR 法およびパルスフィールドゲル電気泳動法により、24 株中 18 株の *bla*_{IMP-1} 遺伝子の伝達性が確定できた。バイオフィル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。MBL 産生緑膿菌の伝播・拡散防止のためには、バイオフィル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、除菌が重要である。

A. 研究目的

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。

B. 研究方法

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 \geq 16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、CPFX \geq 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、AMK \geq 32 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の全てを満たす菌株とした。

バイオフィルムアッセイには 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ル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。バイオフィルム形成能は、OD₅₇₀ 値により高度形成群 (OD₅₇₀ \geq 1)、中等度形成群 (1 > OD₅₇₀ \geq 0.5)、低度形成群 (0.5 > OD₅₇₀ \geq 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(バイオフィルム高度形成群: 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。

C. 研究結果

MBL 産生緑膿菌 123 株中、106 株 (86.2%) が IPM、CPFX、AMK の 3 剤に耐性を示す MDRP であった。バイオフィルム形成能は、高度形成群 29 株、中等度形成群 47 株、低度形成群 47 株であった。高度形成群 29 株中 27 株、中等度形成群 47 株中 44 株、低度形成群 47 株中 35 株は MDRP であった。

イミペネム耐性の伝達性を検討した 35 株のうち、33 株にイミペネム耐性の伝達を認めた。33 株の伝達頻度は 10^{-4} ~ 10^{-9} であり、比較的伝達頻度の高い (10^{-4} ~ 10^{-6}) 株は 9 株であった。その内訳は、バイオフィルム形成別では、高度形成群 4 株、中等度 4 株、低度 1 株であった。伝達頻度の低い (10^{-7} ~ 10^{-9}) 株は 24 株であった。

接合伝達実験を行った 35 株のうちイミペネム耐性の伝達が認められた 33 株に対し、接合伝達株(transconjugant : TC)と推測されたコロニーについて PCR 法を実施し、*bla*_{IMP-1} 遺伝子の有無を確認した。その結果、33 株(供与菌)由来の接合伝達(推測)株の全てが耐性遺伝子を保有していた。

接合伝達株(TC)であることを確定するために、さらに PFGE 解析を行った。24 株中 18 株(バイオフィルム高度形成群: 6 株、中等度: 7 株、低度: 5 株)において接合伝達株(TC)であることが確定され、そのうち比較的伝達頻度の高い (10^{-4} ~ 10^{-6}) 株は 5 株、

低い(10^{-7} ~ 10^{-9})株は 13 株であった。

D. 考察

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。バイオフィー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ー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} ~ 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} 遺伝子の伝達を確認できた。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つえるために、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・菌種間の伝達の問題となる。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、バイオフィー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。

E. 結論

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。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Wada K, Kariyama R, Mitsuhashi 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.
- 2) 狩山玲子、公文裕巳: バイオフィーム感染症 臨床編「泌尿器感染症とバイオフィーム」. 臨床と微生物 36(5): 445-449, 2009.
- 3) 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)

2. 学会発表

- 1) 第 83 回 日本感染症学会総会 : 東京 2009, 4. 23-24
「尿路由来メタロ-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耐性遺伝子伝達性の検討」
狩山玲子、石井亜矢乃、上原慎也、渡辺豊彦、公文裕巳
- 2) 第 23 回 Bacterial Adherence & Biofilm 学術集会 : 東京 2009, 7. 11
「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」
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
- 3) ASM Conference on Biofilms 2009 : Cancun, Mexico 2009, 11. 15-19
「 Biofilm-forming capabilities and molecular epidemiology of metallo-β-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa*」
Kariyama R, Yamamoto M, Mitsuhata R, Ishii A, Uehara S, Watanabe T, Kumon H
- 4) 第 25 回 日本環境感染学会総会 : 東京 2010, 2. 5-6
「長期尿路カテーテル留置患者における臨床的背景および細菌尿に関する検討」
山本満寿美、原田悦子、吉本静雄、狩山玲子、公文裕巳

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)
分担研究報告書

「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」

「院内感染における薬剤耐性菌の評価指標の開発」

研究分担者 狩山玲子 (岡山大学大学院医歯薬学総合研究科泌尿器病態学 助教)
研究協力者 山本満寿美 (岡山大学大学院医歯薬学総合研究科泌尿器病態学 研究員)
森 みずえ (九州看護福祉大学 准教授)

研究要旨

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。27名中21名の歯垢から検査対象菌が1名につき1～4菌種検出され、6名の歯垢からはいずれも検出されなかった。検出頻度の高かった3菌種 *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, MRSA (methicillin resistant *Staphylococcus aureus*)は、それぞれ16名(59.3%)、9名(33.3%)、9名(33.3%)に検出された。概算菌量は、*P. aeruginosa* (+++7名, ++4名, +5名)、*S. marcescens* (+++9名)、MRSA(+9名)であった。一方、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。医療現場において、バイオフィル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。

A. 研究目的

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。

B. 研究方法

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、コロニーを鈎菌し、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)。

C. 研究結果

① 慢性期中規模病院の障害者病棟に入院中の患者における歯垢内日和見病原菌の検出状況

27 名中 21 名の歯垢から検査対象菌が 1 名につき 1~4 菌種検出され、6 名の歯垢からはいずれも検出されなかった。検査対象菌が検出された 21 名中 16 名に、*P. aeruginosa* が検出された。また *S.*

marcescens および MRSA は、それぞれ 9 名に検出された。ついで、 β 溶血性 *Streptococcus* 属および *K. pneumoniae* 4 名、MSSA 1 名であり、*S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *M. catarrhalis* は検出されなかった。検出頻度の高かった 3 菌種の概算菌量は、*P. aeruginosa* (+++ 7 名, ++ 4 名, + 5 名)、*S. marcescens* (+++ 9 名)、MRSA(+ 9 名)であった。

② 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

障害児 14 名中 11 名の歯垢から検査対象菌が 1 名につき 1~3 菌種検出され、3 名の歯垢からはいずれも検出されなかった。検査対象菌が検出された 11 名中 9 名に、*P. aeruginosa* が検出された。ついで、MRSA 4 名、*S. marcescens* 3 名、MSSA 2 名 *K. pneumoniae* 1 名であり、 β 溶血性 *Streptococcus* 属、*S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *M. catarrhalis* は検出されなかった。検出頻度の高かった 3 菌種の概算菌量は、*P. aeruginosa* (+++ 2 名, ++ 4 名, + 3 名)、MRSA (++ 1 名, + 3 名)、*S. marcescens* (+++ 3 名)であった。一方、健常児 31 名では *P. aeruginosa* 1 名、*K. pneumoniae* 1 名が検出されたのみで、他菌種は検出されなかった。

D. 考察

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確認したが、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。

E. 結論

医療現場において、バイオフィル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。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 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)

2. 学会発表

- 1) 第 35 回 日本重症心身障害者学会学術集会：新潟 2009, 9, 24-25

「柳川療育センターの重症児における歯垢からの細菌検出状況」

松尾久美子、森みずえ、狩山玲子

- 2) 第 25 回 日本環境感染学会総会：東京 2010, 2, 5-6

「重症心身障害児および健常児における歯垢内日和見病原菌と唾液内総レンサ球菌に関する比較検討」

狩山玲子、森みずえ

- 3) 第 25 回 日本環境感染学会総会：東京 2010, 2, 5-6

「長期尿路カテーテル留置患者における臨床的背景および細菌尿に関する検討」

山本満寿美、原田悦子、吉本静雄、狩山玲子、公文裕巳

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

*Evaluation of Oral Care Practice Based on Opportunistic Pathogens Identified in Dental Plaque
of Adults/children with Severe Motor and Intellectual Disabilities*

森みずえ¹⁾・山本満寿美²⁾・千田好子³⁾・狩山玲子²⁾

Mizue MORI¹⁾, Masumi YAMAMOTO²⁾, Yoshiko SENDA³⁾ and Reiko KARIYAMA²⁾

¹⁾ *Kyushu University of Nursing and Social welfare*

²⁾ *Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences*

³⁾ *Sanyo Gakuen University, Department of Nursing*

¹⁾ 九州看護福祉大学看護福祉学部

²⁾ 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科

³⁾ 山陽学園大学看護学部

日本環境感染学雑誌（印刷中）

要 旨

療育センター入所中の重症心身障害者（児）を対象に、歯垢内に存在する日和見感染症の主たる原因菌の検出状況を調査した。その後、検出菌種および菌数の減少を目的に、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、その効果を細菌学的に評価した。対象とした障害者（児）56名のうち11名は観察室、45名はデイルームで医療・生活管理を受けていた。56名中24名の歯垢から、検査対象菌が1名につき1～3菌種検出され、主たる検出菌であるMRSA (methicillin resistant *S. aureus*), *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens* の3菌種は、それぞれ14名 (25.0%), 14名 (25.0%), 5名 (8.9%) に検出された。このため観察室とデイルーム別に変更した口腔ケア方法を障害者（児）全員に実施し、これら3菌種のいずれかが検出された20名の追跡調査を行った。ケア変更前/変更5ヶ月後の概算菌数別検出者数は、MRSA (+++ 1名/0名, ++ 2名/0名, + 11名/7名), *P. aeruginosa* (+++ 8名/0名, ++ 5名/10名, + 1名/2名), *S. marcescens* (+++ 5名/3名, + 0名/1名)であった。変更した口腔ケア方法は、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が、*P. aeruginosa* の除菌は困難であった。今後、重症心身障害者（児）の個々の口腔内の状態や検出菌種および菌数に応じた口腔ケア方法の開発を行う必要がある。

Key words: 重症心身障害者（児）、歯垢、口腔ケア、*P. aeruginosa*, MRSA

はじめに

筆者らは気管内吸引を必要とする長期在宅療養患者を対象とした調査を行い、気管内吸引カテーテルや歯垢からの検出菌種を報告した^{1,2)}。具体的には、歯垢から *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumoniae* が高い割合で検出され、その8割が若年者からのいわゆる重症心身障害を有する患者であった¹⁾。重症心身障害者（児）は、脳・神経系の疾患により重度の知的障害および身体障害のため、自身で口腔清掃ができない場合が多い。また、咳嗽による防御反応が低下し、摂食・嚥下障害を有する障害者（児）も多く、誤嚥を起こしやすい。そのため、気道内に口腔由来の微生物が進入することにより、肺炎などの呼吸器感染症を起こす危険性が高い^{3,4)}。口腔内に存在する *Staphylococcus aureus*, *P. aeruginosa* など日和見感染症の原因菌が、誤嚥性肺炎に関与するとの指摘がある⁵⁾。呼吸器感染症は重症心身障害者の主要死因であり⁶⁾、誤嚥性肺炎を予防するために、口腔内の病原菌を除去することは極めて重要となる。口腔内フローラを形成する日和見病原微生物は潜在的リザーバーである歯垢に多数存在することから、呼吸器感染のリスクを推測する上で、歯垢内微生物の検索は重要な意味を持つ。高齢者の肺炎リスクに関する研究においては歯垢内日和見病原菌の検出状況が調査されており^{7,8)}、重症心身障害者施設の障害者（児）ではう蝕有病状況やう蝕関連細菌の検出状況などの報告がある^{9,10)}。しかし、障害者（児）の誤嚥性肺炎を予防するための口腔内清浄保持に関しては、唾液あるいは咽頭粘液中の一般細菌数やカンジタ菌数の変化を指標に評価した報告があるものの^{11~13)}、歯垢内日和見病原菌の検出状況を指標に評価した報告はない。

本研究では、重症心身障害者（児）に対する効果的な口腔ケア方法を確認するための初段階として、療育センターに入所中の重症心身障害者（児）を対象とし、歯垢に存在する日和見感染症の主たる原因菌の検出状況をスクリーニング的に調査した。その後、歯垢からの検出菌種および菌数の減少を目的に、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、その効果を細菌学的に評価した。

対象と方法

1. 対象

A 県の療育センター（1施設）に入所中の重症心身障害者（児）56名を対象として、初めにスクリーニング的調査を実施した。その結果に基づいて、20名の追跡調査を行った。56名の障害者（児）のうち11名は観察室において24時間の医療・生活管理を受け、45

名は自室とデイルームを行き来し、主にデイルームにおいて介護を受けていた。障害者（児）の保護者には文書と口頭で研究の趣旨を説明し、研究参加の同意が得られた後に調査を実施した。なお本調査は、岡山大学大学院保健学研究科倫理委員会の承認（2006年5月）を得た後に実施した。

2. 質問紙による調査

療育センター障害者（児）56名の①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、看護師長に調査票の記入を依頼し、調査結果を集計した。

3. 口腔からの検体採取および検出菌の菌種同定と概算菌数

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、東京）を使用した¹⁾。採取時間は毎回昼食30分前とし、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 *S. aureus*), MSSA (methicillin sensitive *S. aureus*), *P. aeruginosa*, *S. marcescens*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *K. 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（血液寒天培地、BTB培地、チョコレート寒天培地、OPA培地、PASA培地：日本ベクトンディッキンソン社）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）。

4. 口腔ケアの実施

1) 従来の口腔ケア

療育センター障害者（児）の生活の場は観察室とデイルームに大別され、観察室の障害者（児）には、嚥下困難があり誤嚥の可能性も高いため、デイルームの障害者（児）とは異なる方法で口腔ケアが実施されていた。観察室の障害者（児）（11名）の口腔ケアは、7 w/v %ポビドンヨード含嗽剤（明治製菓社）を2, 3滴滴下した水道水（約50 mL）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、水道水（約50 mL）に0.05 w/v %クロルヘキシジングルコン酸塩含有洗口液（ウエルテック社）を2, 3滴滴下し、その中に浸したガーゼを使用して口腔内清拭を3～4回（不定期）実施していた。デイルームの障害者（児）（45名）の口腔ケアは、0.05 w/v %クロルヘキシジングル

ルコン酸塩含有洗口液を1, 2滴滴下した水道水又はお茶(約50 mL)を使用し, 歯ブラシによるブラッシングを1~2分間1日3回(食後)実施していた.

2) 変更後の口腔ケア

観察室とデイルーム別に, 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することとし, 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. 観察室の障害者(児)に対しては, 朝・夕の使用薬剤を7 w/v %ポビドンヨード含嗽剤から0.05 w/v %クロルヘキシジングルコン酸塩含有洗口液に変更した. 0.05 w/v %クロルヘキシジングルコン酸塩含有洗口液は希釈せず, 吸引器付歯ブラシに直接2, 3滴付け, 2~3分間朝・夕ブラッシングした. ブラッシング後は吸引だけでなく, 水道水で濡らした湿ガーゼによる口腔内清拭(2~3回)を行った. ただし, 夜間は0.05 w/v %クロルヘキシジングルコン酸塩含有洗口液の代わりに7 w/v %ポビドンヨード含嗽剤を2, 3滴滴下した水道水(約50 mL)で濡らした湿ガーゼによる口腔内清拭(3~4回)を毎日行った. デイルームの障害者(児)に対しては, 0.05 w/v %クロルヘキシジングルコン酸塩含有洗口液を歯ブラシに直接2, 3滴付け, 1日3回(食後)1~2分間ブラッシングした. その後, 水道水によるブラッシングを1~2分間追加し, さらに水道水で濡らした湿ガーゼによる口腔内清拭(2~3回)を行った.

5. 口腔ケア変更後の評価

56名の歯垢調査の結果に基づいて, 検出頻度の高い3菌種(MRSA, *P. aeruginosa*, *S. marcescens*)のいずれか1菌種でも検出された20名の追跡調査を行った. すなわち, 口腔ケア方法変更後1ヶ月, 2ヶ月, および5ヶ月目に歯垢を採取し, 細菌の検出状況を調べた. なお, 変更した口腔ケアは5ヶ月間重症心身障害者(児)56名全員に実施した.

結 果

1. 療育センター障害者(児)の口腔ケア変更前における検査対象菌の検出状況

療育センター障害者(児)56名全員の口腔ケア変更前における検査対象菌の検出状況を示した(表1). 56名中24名の歯垢から検査対象菌が1名につき1~3菌種検出され, 32名の歯垢からはいずれも検出されなかった. 検査対象菌が検出された24名中, MRSA および *P. aeruginosa* がそれぞれ14名に検出された. ついで *S. marcescens* 5名, MSSA および *K. pneumoniae* 3名, β 溶血性 *Streptococcus* 属2名であり, *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *M. catarrhalis* は検出されなかった. 検査対象菌が検出された24名中11名は観察室の障害者