

(児) 全員であり、残り 13 名はデイルームの障害者 (児) であった。MRSA, *P. aeruginosa*, *S. marcescens* のいずれか 1 菌種が検出された追跡対象者 (児) 20 名の歯垢からは、*K. pneumoniae* (2 名) や β 溶血性 *Streptococcus* 属 (2 名) も検出された。追跡外対象者 (児) 36 名は全員がデイルームの障害者 (児) であり、4 名の歯垢から検査対象菌が 1 名につき 1 菌種検出されたのみで、32 名の歯垢からはいずれも検出されなかった。追跡外対象者 (児) からの検出菌は MSSA と *K. pneumoniae* であった。

2. 追跡調査対象者 (児) 20 名の背景と口腔内の状態

追跡調査対象者 (児) 20 名中 11 名は観察室管理下にあり、9 名はデイルームで介護を受けていた (表 2)。男女比は 7 : 3 であり、15 歳以下は 11 名、20 代 4 名、30 代 2 名、50 代が 3 名であった。20 名全員に、基礎疾患として脳・神経系疾患があり、全員抗痙攣剤を内服していた。意識レベルは 1 名を除いて清明であり、IQ 20 以下 (大島分類 : 1, 2, 5) は 18 名、IQ 20~35 (大島分類 : 4) は 2 名であった。活動性は、寝たきり (大島分類 : 1, 4) が 15 名で、残り 5 名は座位まで可能 (大島分類 : 2, 5) であった。気管孔造設は 8 名、人工呼吸器使用は 4 名、半年以内の肺炎の既往は 8 名であった。経管栄養の 14 名中、経口摂取との併用は 1 名、嚥下できないあるいは嚥下困難は 15 名であった。障害者 (児) のほとんどは唾液の分泌が多く、口内乾燥、口内炎、う蝕は見られなかった。義歯を装着している障害者は 2 名、歯肉腫脹のある障害者 (児) は 6 名、薬剤の副作用による歯肉肥厚は 1 名であった。歯牙の 1/2 以上に歯石が見られた障害者 (児) は 4 名、歯槽膿漏と診断された障害者は 1 名であった。

3. 追跡調査対象者 (児) 20 名の口腔ケア変更前後における検査対象菌の検出状況

口腔ケア変更前後における歯垢からの菌種別検出者数および概算菌数を図 1 に示した。口腔ケア変更前、追跡調査対象者 (児) 20 名中、MRSA, *P. aeruginosa*, *S. marcescens* の 3 菌種が全て検出された障害者 (児) は 3 名、MRSA と *P. aeruginosa* の 2 菌種が検出された障害者 (児) は 6 名で、これら 9 名のうち 8 名は観察室管理下にいた。MRSA, *P. aeruginosa*, *S. marcescens*, *K. pneumoniae* は変更 1 ヶ月後、2 ヶ月後、5 ヶ月後も継続的あるいは断続的に検出されたが、 β 溶血性 *Streptococcus* 属は一過性であった。MRSA は変更前に 14 名、変更 1 ヶ月後に 10 名、2 ヶ月後に 8 名、5 ヶ月後に 7 名から検出された。*P. aeruginosa* は変更前に 14 名、変更 1 ヶ月後に 12 名、2 ヶ月後に 12 名、5 ヶ月後に 12 名から検出された。*S. marcescens* は変更前に 5 名、変更 1 ヶ月後に 3 名、2 ヶ月後に 2 名、5 ヶ月後に 4 名から検出された。概算菌数別検出者数の変動については、それぞれの菌種において特徴があっ

た。MRSAは変更前に11名が+であったが、変更5ヵ月後には7名に減少し、++および+++は0名となった。*P. aeruginosa*は変更前に8名が+++であったが、変更5ヶ月後には8名全員が++に減少、+++は0名となった。その結果、++は変更前の5名から変更5ヵ月後には10名へと増加した。*S. marcescens*は変更前に5名が+++であり、変更5ヶ月後も3名が+++であった。そのうち2名は+++が継続的あるいは断続的に検出された。

考 察

本研究の対象者(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。口腔ケアは、看護師・介護スタッフにより1日3回以上行われ、歯科医による半年毎の検診およびスケーリングも行われていた。そのためか、歯垢や歯石は肉眼的には認められず、口腔内の清掃状態が不良な障害者(児)はいなかった。

本調査において、障害者(児)56名中24名の歯垢から、MRSA、*P. aeruginosa*、*S. marcescens*、MSSA、*K. pneumoniae*、 β 溶血性 *Streptococcus* 属のいずれかの菌種が検出された。そのうちの検出率上位3菌種はMRSA (25.0%)、*P. aeruginosa* (25.0%)、*S. marcescens* (8.9%)であり、それぞれの菌種が検出された障害者(児)の6割以上が観察室管理下にあった。歯垢内肺炎起炎菌に関しては、高齢者を対象とした報告がある^{7,8,14,15}。要介護高齢者の歯垢からは、MRSAと*P. aeruginosa*がそれぞれ17.5%、18.6%検出されており⁷、健康な高齢者の歯垢からは、MRSA、*P. aeruginosa*が1~4%検出されていた¹⁴。本研究では、歯垢からのMRSAと*P. aeruginosa*の検出率が25.0%であり、要介護高齢者における検出率よりも高かった。これは、障害者(児)の身体障害が重度であり、気管切開や人工呼吸器装着など要介護高齢者に比べ医療処置や医療機器使用の頻度が高いことが影響していると考えられた。

追跡調査対象者(児)20名について、MRSA、*P. aeruginosa*、*S. marcescens*3菌種の検出状況を考察した。*P. aeruginosa*は観察室の障害者(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(10名/11名)や経鼻経管栄養(9名/11名)、気管切開(7名/11名)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^{7,8,15,16}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名の障害者(児)において*P. aeruginosa*が検出された4名のうち2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¹⁷⁾。本調査の観察室の障害者（児）は、それらの危険因子のほとんどに該当した。デイルームの障害者（児）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 人の障害者（児）に高密度に接すること、およびデイルームでは障害者（児）間の濃厚接触があることから、接触伝播の可能性が考えられた。*S. marcescens* が歯垢から検出された 5 名中 4 名は観察室の障害者（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者（児）は、これらの菌が歯垢内に定着していることを示しており、嚥下機能の低下した障害者（児）にとって、これらの検出菌を誤嚥する可能性が高いことを示唆しているものとする。

これら検出菌種および菌数の減少を目的として、口腔ケアの方法を変更した。変更前には、障害者（児）の疾患の重症度と嚥下状態にあわせて 2 種類の方法で口腔ケアが実施されていた。この施設では、障害者（児）が口腔ケアを嫌悪しないで継続的に受け入れられる様、強制をせず、時には短時間で終えるなど工夫をしていた。看護師および介護スタッフは、毎年、専門職による口腔ケア方法の指導を受けており、障害者（児）へ根気よく実施していた。唾液中の細菌数を減少させるためには歯磨き剤の使用や機械的な清掃が有効との報告がある^{12,13,18)}。口腔内のブラッシング後は、バイオフィルムの剥離により唾液中の細菌数が増加し¹¹⁾、含嗽のできない障害者（児）はバイオフィルム菌が再定着すると考えられた。そこで、吸引よりも丁寧な除去方法として、ガーゼでの清拭を行うこととした。また、0.2 w/v % クロルヘキシジングルコン酸塩含有ゲル、0.15 w/v % クロルヘキシジングルコン酸塩含有洗口液の使用が、それぞれに ICU の人工呼吸器装着患者、心臓手術患者の咽頭の常在菌を著しく減少させたとの報告がある^{19,20)}。しかし、クロルヘキシジン製剤はショック症状を発現することがあるため、本邦では粘膜面への使用は禁忌であり、0.15～0.2 w/v % 濃度のクロルヘキシジングルコン酸塩含有洗口液は発売されていない。本調査の施設では、1 年前から 0.05 w/v % クロルヘキシジングルコン酸塩含有洗口液（コンクール F[®]、ウエルテック社）を水道水約 50 mL に 2～3 滴滴下し、その中に浸したガーゼを使用して口腔清拭を 3～4 回実施することにより、口臭が減少したとの結果を得ていた。そこで、本研究では、現行（市販）の洗口液のクロルヘキシジングルコン酸塩成分の効果に期待し、口

口腔ケア方法の変更後はブラッシング時に直接 0.05 w/v % クロルヘキシジングルコン酸塩含有液を歯ブラシに付けて使用した。また、観察室の夜間の口腔ケア時に、殺菌効果の高い 7 w/v % ポビドンヨード含嗽剤¹²⁾の希釈液を口腔内拭き取りに使用した。変更後、MRSA は早い時期から陰性化し始め、5 ヶ月後には MRSA が検出された障害者（児）の半数 7 名（50%）が陰性化し、陰性化しなかった 7 名の菌数は+であった。7 w/v % ポビドンヨード含嗽剤の 30 倍希釈液を使用することにより、口腔常在菌が顕著に減少したという報告がある¹²⁾。0.05 w/v % クロルヘキシジングルコン酸塩含有洗口液の菌数減少効果に加え、観察室の障害者（児）においては、7 w/v % ポビドンヨード含嗽剤の希釈液による口腔清拭が、MRSA の陰性化あるいは菌数減少に相加的に作用したと考えられた。*P. aeruginosa* については、変更 5 ヶ月後に菌数が減少あるいは陰性化した障害者（児）は 14 名中 11 名（78.6%）であったが、10 名の菌数は ++ であり、陰性化に至ったのは 2 名であった。これは障害者（児）自身の内因性の因子に加え、*P. aeruginosa* の特徴としてバイオフィーム形成能が高いため消毒薬にも抵抗性を示し、一度定着すると容易には除菌できない性質^{21, 22)}によるためと考えられた。

対象とした重症心身障害者（児）の多くは、口腔ケア方法の変更後、歯垢からの検出菌の陰性化あるいは菌数減少を認めた。これは、自分では含嗽できない障害者（児）に対して、ブラッシングという機械的刺激により剥離した歯垢内細菌を確実に除去する方法として、口腔内清拭を実施したためと考えられた。しかし、寝たきり状態や経鼻経管栄養、気管切開など多くの処置を必要とする障害者（児）は MRSA, *P. aeruginosa*, *S. marcescens* の保有率が高く、*P. aeruginosa* は依然として除菌困難であった。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。

謝辞：本調査を行うにあたり、ご協力いただいた被験者の皆様、療育センターの看護師長および看護師、介護スタッフの皆様に深謝いたします。

利益相反について：本研究は厚生労働科学研究費補助金（平成 19-21 年度：H19 - 医療 - 一般 - 007）による助成を受けて行った。利益相反はない。

文 献

1. 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. 環境感染誌 2009; 24(1):27-35.
2. 千田好子, 渡邊久美, 犬飼昌子, 野村佳代, 岡野初枝, 林優子, 他. 人工呼吸回路による在宅呼吸管理を必要とする患者の感染管理の実態と気管内吸引関連物品の細菌汚染に関する検討. 岡山医学会誌 2006; 118:33-40.
 3. 有馬正高. 障害者医療の現状と問題点. 日歯麻会誌 2003; 31(2):103-6.
 4. 平岡俊章, 山内香代子, 伊藤正樹, 岡本卓真, 河合利方, 柳瀬博, 他. 重症心身障害者入所施設における口腔ケアの効果 - 発熱日数を指標として -. 障害者歯 2008; 29(2): 126-32.
 5. 関沢清久. 嚥下性肺炎とその予防. 医学のあゆみ別冊 呼吸器疾患 state of arts 2003-2005, 医歯薬出版, 東京, 2003. p.701-3.
 6. 折口美弘, 宮野前健, 今井雅由, 西間三馨. 旧国立療養所重症心身障害者(児)の年次別呼吸器感染症死亡推移. 日重症心身障害会誌 2007; 32(3):313-7.
 7. 角保徳, 譽田英喜, 道脇幸博, 砂川光宏, 佐々木俊明. 要介護高齢者のプラーク内の肺炎起炎菌. 老年歯医 2003; 17(3):337-41.
 8. Senpuku H, Sogame A, Inoshita E, Tsuha Y, Miyazaki H, Hanada N. Systemic diseases in association with microbial species in oral biofilm from elderly requiring care. Gerontology 2003; 49(5):301-9.
 9. 中川義信, 有田憲司, 阿部洋子, 松本千都世, 樋口智津, 渡辺泰代. 長期入院重症心身障害児・者の口腔内状況. 医療 2008; 62(4):197-203.
 10. 高井経之, 小笠原正, 川瀬ゆか, 北村瑠美, 小島広臣, 大槻征久, 他. 経管栄養者における口腔内細菌の検索. 障害者歯 2001; 22(1):14-20.
 11. 河瀬聡一郎, 平井要, 山田朱美, 小島広臣, 河瀬瑞穂, 岡田尚則, 他. 摂食・嚥下障害を有する重症心身障害者における介助歯磨き前後の唾液中細菌数の推移. 障害者歯 2007; 28(4):583-88.
 12. 神野恵治, 茂木健司, 笹岡邦典, 根岸明秀. 各種口腔ケアの効果に関する検討 - 口腔常在菌数を指標として - 第 2 報 各種含嗽剤による含嗽効果の検討. Kitakanto Med J 2008; 58(1):1-7.
 13. 笹岡邦典, 茂木健司, 神野恵治, 根岸明秀. 各種口腔ケアの効果に関する検討 - 口腔常在菌数を指標として - 第 3 報 ブラッシングの効果. Kitakanto Med J 2008; 58(2):147-51.

14. Salam MA, Senpuku H, Nomura Y, Matin K, Miyazaki H, Hanada N. Isolation of opportunistic pathogens in dental plaque, saliva and tonsil samples from elderly. *Jpn J Infect Dis* 2001; 54(5):193-5.
15. Tada A, Watanabe T, Yokoe H, Hanada N, Tanzawa H. Oral bacteria influenced by the functional status of the elderly people and the type and quality of facilities for the bedridden. *J Appl Microbiol* 2002; 93(3):487-91.
16. 内藤浩美, 大橋一之, 神部芳則, 草間幹夫. 長期経管栄養者における口腔環境に関する検討 - 唾液 pH と歯周疾患罹患状況, 咽頭細菌について -. *日口腔科会誌* 2003; 52(4):181-7.
17. 小森由美子, 二改俊章. 市中におけるメチシリン耐性ブドウ球菌の鼻腔内保菌者に関する調査. *環境感染誌* 2005; 20(3):164-70.
18. 石川昭, 米山武義, 三宅洋一郎, 宮武光吉. 口腔ケアによる咽頭細菌数の変動. *看技* 2000; 46(1):82-6.
19. Fourrier F, Dubois D, Pronnier P, Herbecq P, Leroy O, Desmettre T, *et al.*: Effect of gingival and dental plaque antiseptic decontamination on nosocomial infections acquired in the intensive care unit: a double-blind placebo-controlled multicenter study. *Crit Care Med* 2005; 33(8):1728-35.
20. DeRiso AJ 2nd, Ladowski JS, Dillon TA, Justice JW, Peterson AC. Chlorhexidine gluconate 0.12% oral rinse reduces the incidence of total nosocomial respiratory infection and nonprophylactic systemic antibiotic use in patients undergoing heart surgery. *Chest* 1996; 109(6):1556-61.
21. 古川智代, 山中武志, 山根一芳, 一居真代, 福島久典. バイオフィルム形成を含む緑膿菌の病原性. *歯科医* 2002; 65(3~4):217-26.
22. 本多啓子. 重症心身障害者施設入所者に対する専門的口腔保健管理の効果. *口腔衛会誌* 2006; 56(1):42-51.

図の説明

図1 追跡調査対象者（児）20名の口腔ケア変更前後における歯垢からの菌種別検出状況および概算菌数

□ : - (菌検出なし), ▨ : + (10^3 cfu/mL),
▩ : ++ ($10^3 \sim 10^5$ cfu/mL), ▨ : +++ (10^5 cfu/mL)

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

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*

Abstract

We examined the prevalence of major opportunistic pathogens identified in the dental plaque of adults/children with severe motor and intellectual disabilities who were residents of a rehabilitation and nursery center. Subsequently, oral care practice was changed to reduce the incidence of opportunistic pathogens in dental plaque expecting higher effects of disinfection, and the effectiveness was evaluated by bacteriological examination; identification of targeted organisms and approximate number of colonies evaluated as (+), (++) , (+++). Of 56 residents, 11 and 45 were cared in each of the intensive-care and day-care rooms, respectively. One to three types of targeted organisms were identified in the dental plaque of 24 residents, and the major opportunistic pathogens MRSA, *Pseudomonas aeruginosa* and *Serratia marcescens* were detected in 14 (25.0%), 14 (25.0%) and 5 (8.9%) residents, respectively. Oral care practice was changed to two new methods for the residents in the intensive-care and day-care rooms, and bacteriological examination was performed for 20 residents in whom any of these 3 types of organisms was detected. Before the change of oral care practice, MRSA was found in 1 (+++), 2 (++) and 11 (+) residents, *P. aeruginosa* in 8 (+++), 5 (++) and 1 (+) residents, and *S. marcescens* (+++) in 5 residents. After the change of oral care practice, these three organisms tended to persist in the same residents, but 5 months later, MRSA was found in 0 (+++), 0 (++) and 7 (+) residents, *P. aeruginosa* in 0 (+++), 10 (++) and 2 (+) residents, and *S. marcescens* 3 (+++) and 1 (+) residents. Although the changed oral care practice was effective in removing or reducing opportunistic pathogens in dental plaque, *P. aeruginosa* was hard to remove. The present study indicates that further development is needed for oral care practice based on the individual condition of the oral cavity, bacterial species detected, and viable counts in adults/children with severe motor and intellectual disabilities.

Key words: adults/children with severe motor and intellectual disabilities, dental plaque, oral care, *P. aeruginosa*, MRSA

表1 療育センター障害者(児)の口腔ケア変更前における菌垢内日和見病原菌の検出状況

検査対象菌	全対象者(56名)		追跡対象者(20名)		追跡外対象者(36名)	
	名	%	観察室	デイレーム	観察室	デイレーム
			(11名)	(9名)	(0名)	(36名)
陽性 (1~3菌種)	24	42.9	11	9	0	4
1菌種	12	21.5	1	7	0	4
2菌種	7	12.5	5	2	0	0
3菌種	5	8.9	5	0	0	0
陰性	32	57.1	0	0	0	32
検出菌内訳						
<i>S. aureus</i> (MRSA)	14	25.0	9	5	0	0
<i>P. aeruginosa</i>	14	25.0	10	4	0	0
<i>S. marcescens</i>	5	8.9	4	1	0	0
<i>S. aureus</i> (MSSA)	3	5.4	0	0	0	3
<i>K. pneumoniae</i>	3	5.4	1	1	0	1
β溶血性 <i>Streptococcus</i> 属	2	3.6	2	0	0	0

菌種	検体 採取時期	追跡調査対象者(児)																			
		観察室										デイルーム									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
MRSA	変更前	■																			
	変更1ヶ月後																				
	変更2ヶ月後																				
	変更5ヶ月後																				
<i>P. aeruginosa</i>	変更前	■																			
	変更1ヶ月後																				
	変更2ヶ月後																				
	変更5ヶ月後																				
<i>S. marcescens</i>	変更前	■																			
	変更1ヶ月後																				
	変更2ヶ月後																				
	変更5ヶ月後																				
<i>K. pneumoniae</i>	変更前																				
	変更1ヶ月後																				
	変更2ヶ月後																				
	変更5ヶ月後																				
β溶血性 <i>Streptococcus</i> 属	変更前																				
	変更1ヶ月後																				
	変更2ヶ月後																				
	変更5ヶ月後																				

図 1

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」

分担研究報告書

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）

分担研究者 高柴 正悟

岡山大学大学院・教授

研究要旨：歯科医学の進歩によって、昨今、プラークなどの口腔内局所の感染源が患者の全身状態に悪影響を及ぼすことが明らかになってきた。このことは、従来、歯科を受診していた患者層の範疇を超えて、新たな患者層においても歯科治療、とりわけ口腔感染コントロールが重要であることを我々に気付かせた。すなわち、「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が確立されつつある。しかしながら、易感染患者に対する口腔感染コントロールを実践する際に、多くの疑問点が生じる。例えば、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、どのような治療を行えば効果があるのか、などは、特に歯科医療の現場で真っ先に直面する問題として挙げられる。

今回、本研究費のサポートによって、上記のような諸問題について学術的に検討した。

その結果、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。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。平成20年度に検討したT-RFLP法を含め、今後多様化する歯科医療の現状に合わせた検査システムを含む感染対策が重要であることを指摘する。

A. 研究目的

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。

我が国の人口動態の将来予測として、高齢者の増加が叫ばれている。このことは、医療を要する人口増加に対する財政的危機を容易に感じさせる。一方、昨今の医療技術の進歩によって、移植治療が頻繁に実

施されるようになった。移植治療においては、臓器の拒絶反応を防ぐために大量の薬剤を用いた化学療法が行われる。移植患者は、これにより、極端に免疫反応が減弱することになる。このように、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ます。

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。

B. 研究方法

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%クロルヘキシジン溶液、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 μ l 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 1 cm 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 リボゾーム 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。

C. 研究結果

1. 口腔ケアによる口腔細菌の飛散状況

表 1 にあるように口腔ケアの実施によって, 受診者の胸上には大量の口腔細菌が飛散していることが分かった。また, 術者の歯科衛生士の胸上のみならず, 側壁に至る範囲にまで口腔細菌の飛散が見られた。ま

た, 術前に水道水で含嗽しても, その飛散の程度に差は見られなかった。しかし, クロルヘキシジン溶液で含嗽した場合, 口腔細菌の飛散の程度が格段に減少することが分かった。

表 1 口腔ケア後の口腔細菌の飛散状況

		Oral	Breast	Right wall	Left wall	DH face	DH breast	Knee
CHX	ATP		3,105	138	180	115	130	79
	DNA	5,837,400	3,991	79	87	89	11,014	403
Water	ATP		69,294	1,033	329	61	388	64,232
	DNA	2,774,000	116,280	284	634	1,133	224	592
なし	ATP		18,437	53	31	1,852	1,002	6,087
	DNA	3,480,000	32,940	161	758	2,660	521	969

2. 口腔細菌の検出における LAMP 法の有用性

段階希釈した鋳型 DNA 抽出サンプルを用いて, LAMP 法による *mecA* ならびに *spa* の検出感度を検出方法別 (電気泳動法と目視判定法) に調べた。60 分の LAMP 反応と電気泳動による検出方法では 1 反応液あたりの鋳型 DNA 量が細菌細胞数に換算して 10^2 個に相当する量 (10^2 cells/tube) から *mecA* の検出が可能であった (図 1A)。自然光下での目視判定法による *mecA* の検出では 10^3 cells/tube から, そして紫外線照射下での目視判定では電気泳動法と同様に 10^2 cells/tube から検出が可能であった (図 2A)。これに対して *spa* の検出限界値は電気泳動, 目視判定のいずれの検出方法においても 10 cells/tube であった (図 1B, 図 2B)。

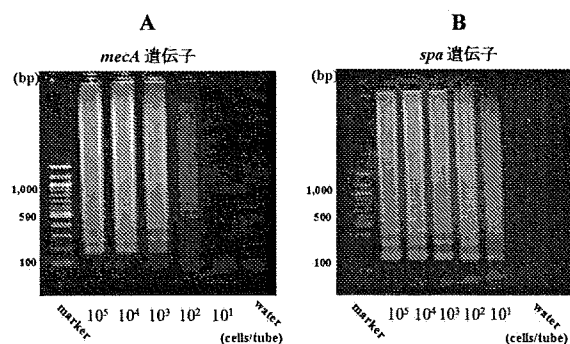
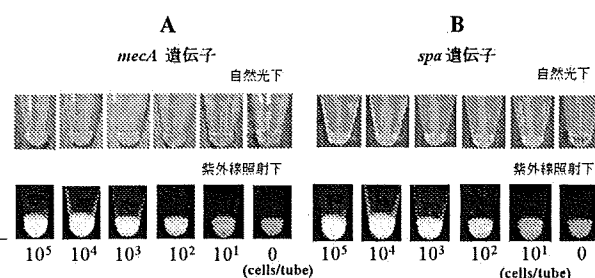


図 1. 電気泳動法による LAMP 法の検出感度試験の結果



下だった。

LAMP 法による検査は、従来の PCR 法と同様に高い特異性と検出感度を示す結果を得た（結果非表示）。そこで両検査法と培養法について、迅速性（所要時間）や簡便性の点からも比較した（表 2）。PCR 法の所要時間（2-3 時間）あるいは培養法の所要時間（24 時間）に比べ、LAMP 法は1時間で増幅反応を終了することができる。また、*mecA* については若干感度が低下するものの、目視による検査判定が可能である結果を得ることもできた。これは、本研究で確立した LAMP 法検査が従来の検査方法と比較した場合に、迅速性の点において大きな利点を持つことを示す結果と考える。さらには、サーマルサイクラーなどの機器を必要としない点、電気泳動を省略できる点から LAMP 法による *mecA* ならびに *spa* の検出法が従来の PCR 法に比べて簡便性の点で優れていることを示すこともできた。

表2. 各種検査法の比較表

検出方法	感度 (cells/tube)	特異性	迅速性	簡便性
LAMP	10~10 ²	高い	1 時間	目視判定可能 サーマルサイクラー不要
PCR	10~10 ³	高い	3~4 時間	サーマルサイクラー必要 電気泳動槽
培養	10 ²	高い	24 時間	培養装置 インキュベーター

LAMP法, PCR法, 培養法で検出方法、感度、特異性、迅速性、簡便性においてそれぞれ検査の結果および特徴を比較した結果を示す。

3. 唾液代替剤（オーラルバランス®）の使用における頬粘膜上の総菌数の変化

頬粘膜上の総菌数は、唾液代替品の使用前後で図 3 のように変化した。唾液代替剤を使用した前後において、総菌数の変化に有意な差は見られなかった（ウィルコクソン符号順位検定）。また、唾液代替剤を使用した移植患者の口腔内総菌数は、健常者で検出された総細菌数のレベルよりも同等以

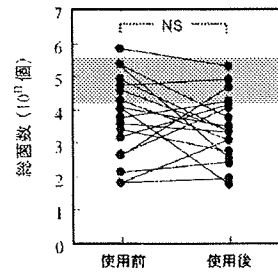


図3. 唾液代替剤（オーラルバランス®）の使用前後における頬粘膜上の総菌数の変化対象患者（18名）の口腔ケア前後の頬粘膜の総菌数を示す。統計は、ウィルコクソンの符号順位検定を用いて検定した。なお、図のグレーゾーンは、健常者（N=10）の頬粘膜の総菌数の領域を示す。NS:有意差なし

さらに、本報告書には示さないが、唾液代替品（オーラルバランス®）の抗菌性を調べた結果、真菌を除くすべての細菌種に対して抗菌性を示し、阻止円が現れた。*C. albicans* に対しては阻止円はなく、唾液代替剤の塗布部位の下部にもわずかに *C. albicans* の増殖が観察された（参照：Sugiura Y *et al*, Support Care Cancer, 2008）。

D. 考察

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

血器悪性疾患の治癒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たすだけでなく、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、白血球数が回復しはじめるまでの約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 (図4)。

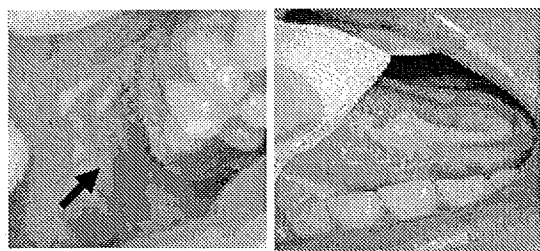


図5. 造血幹細胞移植患者に見られる口腔粘膜障害
口腔内が細菌学的に不潔な場合、口腔粘膜障害が多発することが知られる。

口腔粘膜障害の重症化は、移植後 6～12

日がピークになることが知られる。本研究で調査した造血幹細胞移植患者の口腔粘膜痛の程度は、移植後 7～12 日がピークとなり、口腔粘膜障害の重症化の時期に関する既報とほぼ一致した。そこで、本研究では、移植前の超大量化学療法あるいは全身放射線照射が開始されることが多い移植前 7 日から、移植後 14 日までの間を調査期間とした。患者本人の主観的な感覚や、唾液の流出量ではなく、口腔粘膜自体の保湿度を静電容量として数値化して評価したところ、調査期間の全ての日において、健常者群に比べ有意に口腔粘膜の保湿度は低下していた (結果非表示)。このことから、移植期間中の口腔粘膜は乾燥状態にあり、口腔粘膜の保護において唾液が果たす重要な役割を何らかの形で補う必要性がうかがえた。

本研究で使用した唾液代替剤の使用前後における頬粘膜上の総細菌数は有意な差がないという結果を得た。抗菌テストから得た結果からすれば使用後に減少することが期待されるが、この結果は唾液代替剤という特性を考えれば納得のいくものである。すなわち、抗菌テストから得られた結果から明らかに本唾液代替剤は移植期中の口腔粘膜上の細菌に対して抗菌性を持つが、その抗菌力は唾液に準じるものであり、口腔乾燥を有さない健常者の総菌数程度までしか総菌数は減らないのであろう。本研究結果で注目すべきは全ての造血幹細胞移植期の調査患者において、その口腔粘膜上の総菌数が健常者のその域を超えることがなかったということである。本研究を臨床介入研究として設定しなかったため、唾液代替剤を用いなかった患者の検査結果がない。そのため、今回行った口腔感染管理を実施していない場合での造血幹細胞移植患者の口腔内細菌の状況は、文献上で知り得るのみである。今後は、両方の場合を設定した介入研究が必要である。そうすれば、上記の考察に裏付けが得られると期待される。

本研究では唾液代替剤の影響を主に細菌

学的な面から捉えたが、本剤の使用により口腔粘膜痛の悪化はなく、実際に唾液代替剤を使用した患者からは、口腔粘膜障害で糜爛を呈する粘膜と歯などの接触痛が和らいだという感想をよく聞いた。唾液の役割は物理的にも口腔内の微生物の排出および歯牙との接触の緩衝作用を有し、口腔内の組織に対して優れた保護作用をもたらす^{11,12)}ことからすれば、あるいは疼痛管理、そして粘膜と歯などの物理的な接触を防ぐことにより口腔粘膜障害の増悪防止にも、唾液代替剤は貢献している可能性がある。

本研究で用いた唾液代替剤による口腔内管理を行うにあたって起こった問題が一つあった。それは内科的治療の進行により味覚障害が生じ、本唾液代替剤の味を受けつけなくなった患者が一部見られた。本唾液代替剤にはキシリトールで甘味を付けてある。この味に耐えられなくなった患者を見た。本研究では、医薬部外品として入手可能であるオーラルバランス[®]を使用して行ったが、上述の条件を満たす唾液代替剤であれば何でも使用可能である。あるいは他の味を有する唾液代替剤も味覚障害等の変化に応じて使用しながら、口腔乾燥によって失われている唾液を補うといった対策も考慮する必要がある。さらに、歯科衛生士や看護師の日常業務として、あるいはそれらの指導の下で患者やその家族によって実施可能であるシンプルな口腔感染管理が、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と考えた。

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。

E. 結論

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。

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。

F. 健康被害情報

特に記載事項なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Maeda T, Maeda H, Yamabe K, Mineshiba J, Tanimoto I, Yamamoto T, Naruishi K, Kokeyuchi 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.
2. Sugiura Y, Soga Y, Yamabe K, Tsutani S, Tanimoto I, Maeda H, Kokeyuchi 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.
3. Koide Y, Maeda H, Yamabe K, Naruishi K, Yamamoto T, Kokeyuchi S, Takashiba S.: Rapid detection of *mecA* and *spa* by the loop-mediated isothermal amplification(LAMP) method. *Lett Appl Microbiol.* 2010, *in press.*
4. Yamabe K, Maeda H, Kokeyuchi 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.*

2. 学会発表

1. 杉浦裕子 今, 地域医療の中で Co Dental Staff に求められているもの ～口腔ケアチーム 医科歯科連携の中で学んだこと～, 福山日備会, 平成 21 年 9 月 29 日
2. 高柴正悟 メタボリック症候群の検査に取り入れられるか? 歯周感染の検査, 第 2 回 日本口腔検査学会総会・学術大会, 広島, 平成 21 年 10 月 4 日
3. 杉浦裕子 移植患者の口腔衛生管理 ～保

湿と保清を中心とした口腔ケア～, 東京大学 医学部血液内科主催講演会, 東京, 平成 21 年 11 月 10 日

4. 杉浦裕子 チームで取り組む口腔衛生管理の実際 ～保湿と保清ケアを中心に～, 高知 口腔ケアフォーラム, 高知, 平成 21 年 12 月 12 日

H. 知的財産権の出願・登録状況

特に記載事項なし。

厚生労働科学研究費補助金
(一地域医療基盤開発推進研究事業-H19-医療-一般-007)
分担研究報告書

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)
-歯科医療における院内感染対策への活用に向けて-

分担研究者: 苔口 進 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科・准教授
研究協力者: 佐藤法仁、渡辺朱理
岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 口腔微生物学分野

研究要旨

歯科医療は患者の唾液や血液が飛散しやすい環境であり、歯科における感染予防対策は重要な課題である。今回、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ろう。

A. 研究目的

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

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)サージカルマスクスブラッシュガード付(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。またアルコールウェ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100 μ l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 $^{\circ}$ C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

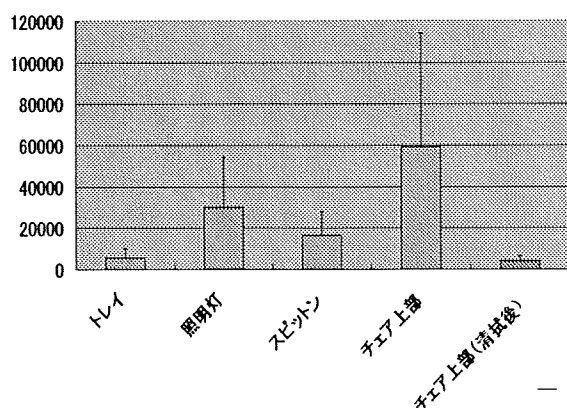
1. 歯科診療時におけるミスト飛散状況:

歯科衛生士着用の滅菌マスクのスプラッシュガード表面の清浄度の変化を指標に調べたところ、診療開始前は45RLU(relative light unit)であったが、歯科診療(歯周検査、ブラッシング、歯の切削補助など)1時間後には平均7,534RLUに増加していた(t検定:p<0.05)。これは診療を伴わない会議後1時間の平均64RLUに比べて有意に清浄度は悪化していた(p<0.05)。

2. 歯科診療室デンタルユニット周囲のATPふき取り検査:

ATPふきとり検査で一日の診療終了後のデンタルユニット11台周囲を調べた。滅菌歯科治療器材などを置くトレイが平均5,606 RLUで調べた部位では清浄度が最も良かった。洗口のためのスピットン(ベースン)は平均16,337 RLUと意外にも低かった。患者の口腔に近い操作ボタンパネル付きチェア上部が最高215,669 RLU(平均59,168 RLU)の値を示した。アルコールウエットティッシュで清拭後にはその値は3931 RLUまで減少した。患者口腔内を照らす照明灯(オペレーティングライト)も最高76,860 RLU(平均30,062 RLU)の値を示した。なお、診療室設置の6台のパソコンキーボード(100cm²)のATPふき取り検査結果は平均13,843 RLUであった。

RLU



3. デンタルユニット給水系からの診療水の細菌汚染調査:

3 連休明けの診療前のデンタルユニット給水系から採水した診療水の RLU 値は 1,150 (平均)であり、3 分間のフラッシング後では RLU 値は 164(平均)となった。一方、培養検査では、3 連休明けの診療前に採水した診療水についての CFU/ml 値は 22,901 (平均)であり、3 分間のフラッシング後の CFU/ml 値は 5,239 となった。フラッシングにより RLU 値および CFU/ml 値の低下は有意であった(t 検定: p<0.01)。また、大腸菌は検出されなかった。しかしながら、Centers for Disease Control and Prevention (CDC; 米国疾病予防管理センター)が推奨する従属栄養細菌数 500CFU/ml 以下の基準は、デンタルユニット 24 台中 1 台の給水系しか満たしていなかった。

D. 考察

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

バイオフィルムが形成され、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^{-15} 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、その沈澱物について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。

E. 結論

「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。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

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.

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.

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.

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.

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.

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.

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.

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*.

Yamabe K, Maeda H, Kokeguchi S, Soga Y, Meguro M, Naruishi K, Asakawa S, Takashiba