

図3 2年おきの変動:質問: 口外バキュームを設置していますか？

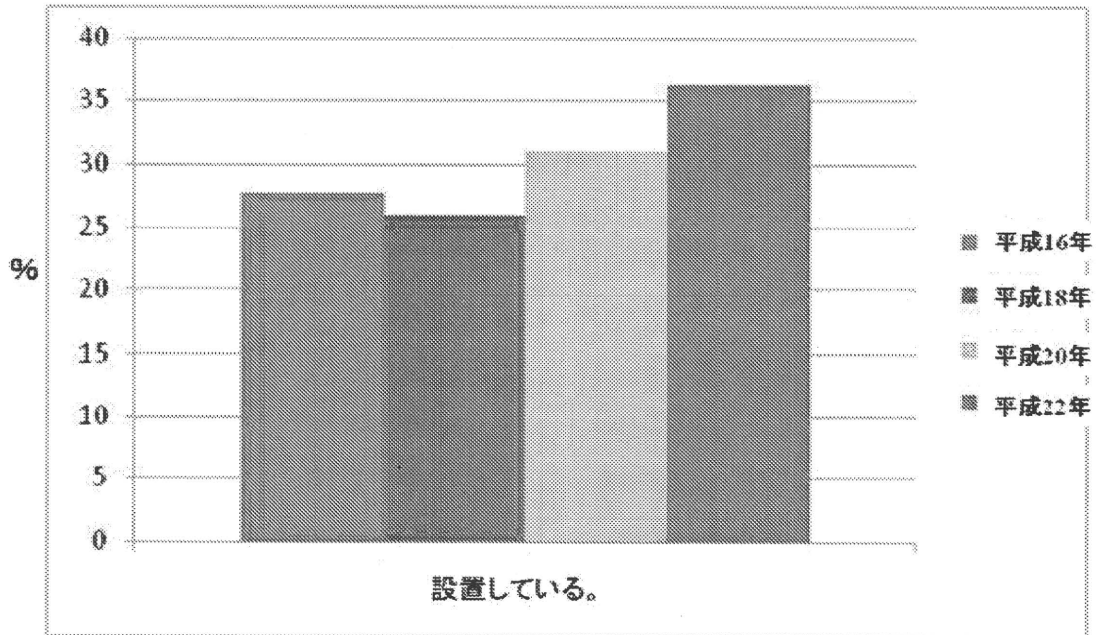


図4 2年おきの変動:質問: 感染対策マニュアルを作成していますか？

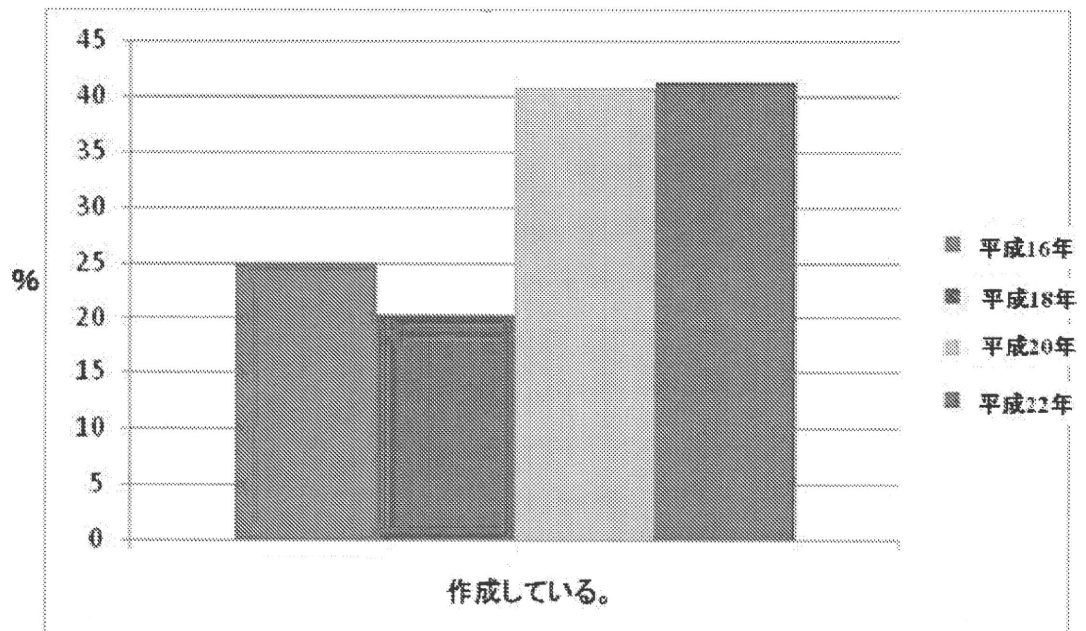


図5 2年おきの変動;質問:感染対策マニュアルを作成していますか？

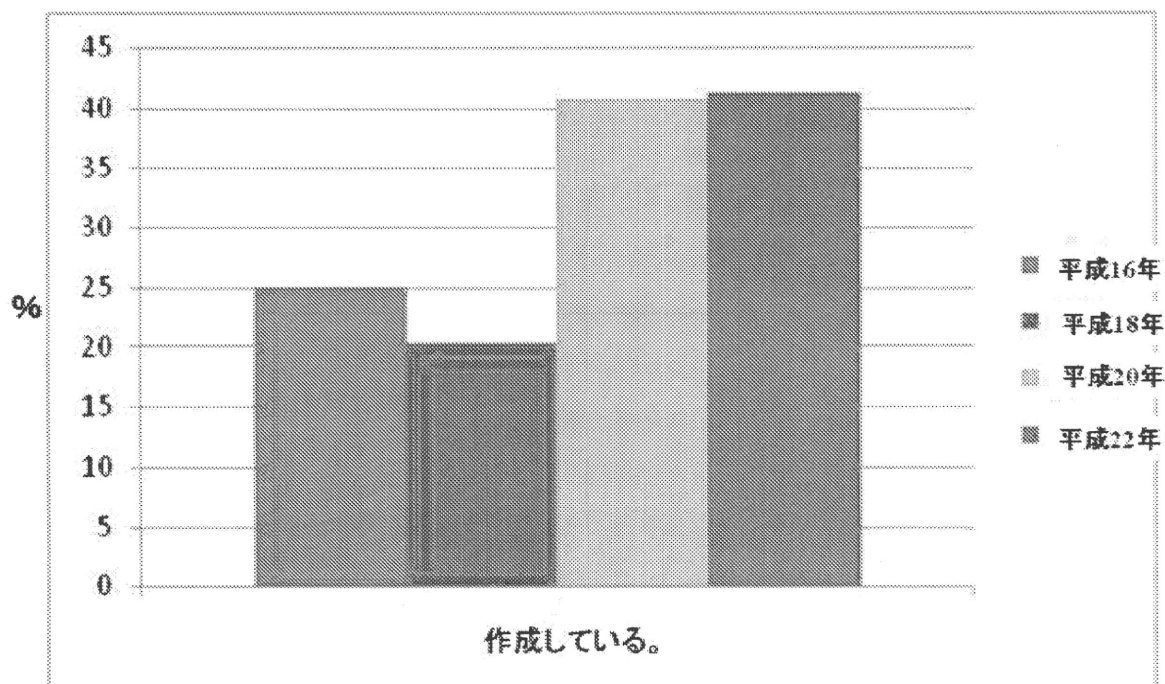


図6 2年おきの変動;質問:

質問:平成19年4月より医療法が改正され医療安全のなかでも感染対策が重要視されていますが、この法改正により感染対策に対する意識が変わりましたか

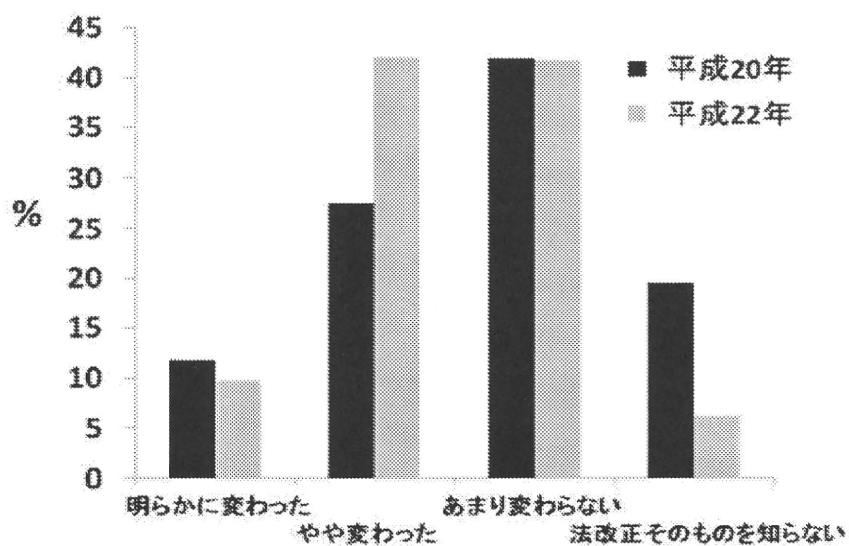


図7 2年おきの変動:質問:

ご自分の診療所の感染対策の評価はいかがでしょう

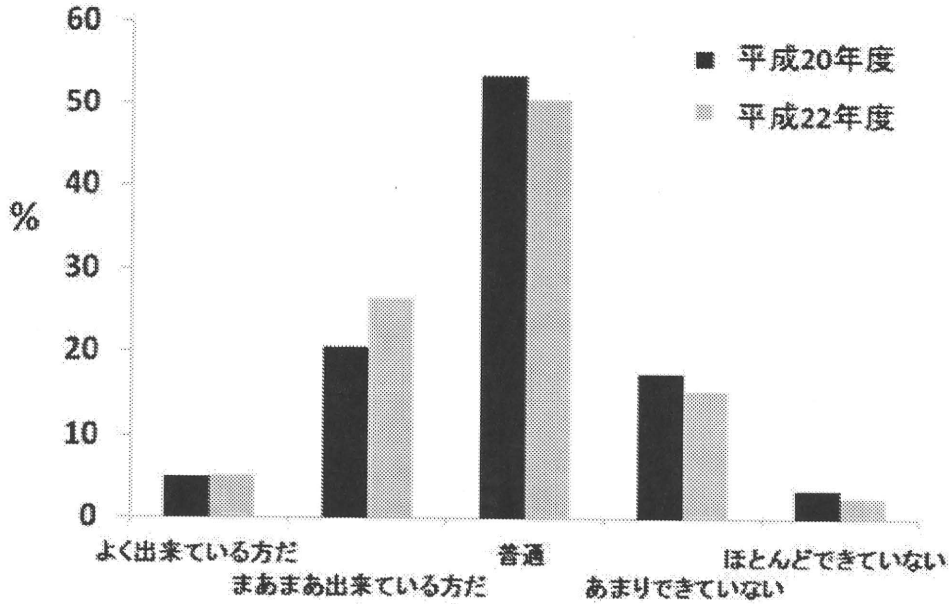


図8 2年おきの変動:質問:

質問:平成20年4月の診療報酬改定で外来診療環境体制加算が算定できるようになり、この中に口腔外パキュームもその要件として加えられました。これにより口腔外パキュームを設置しましたか?

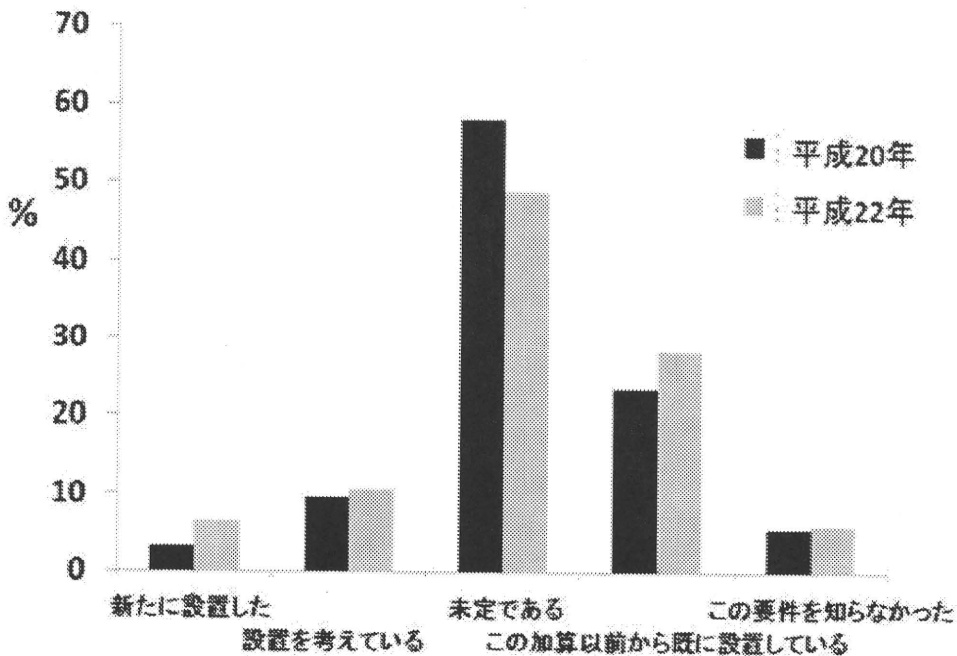


図9 2年おきの変動;質問:

質問:感染対策費用として、患者一人当たりにならぐらい  
までならかけられますか

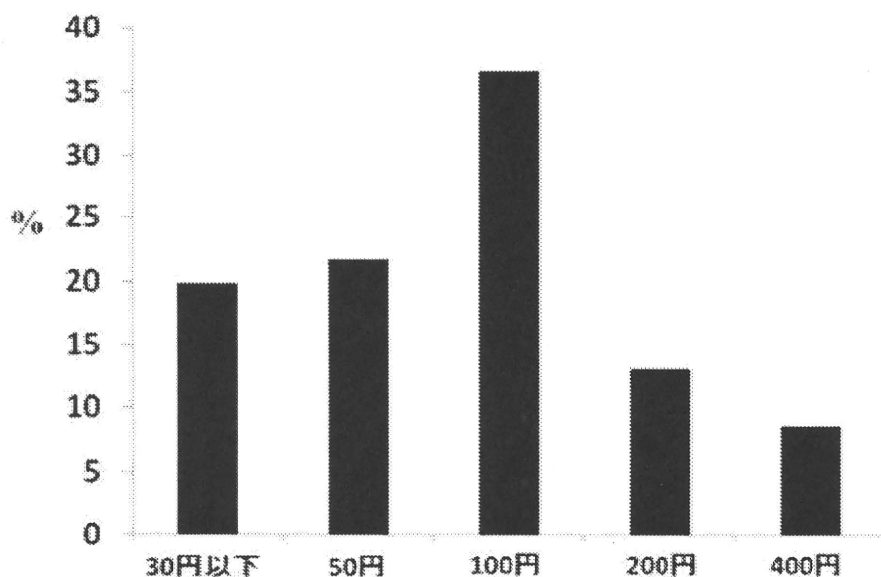


図10 医療法の改正による意識変化とスタンダードプレコーションの理解

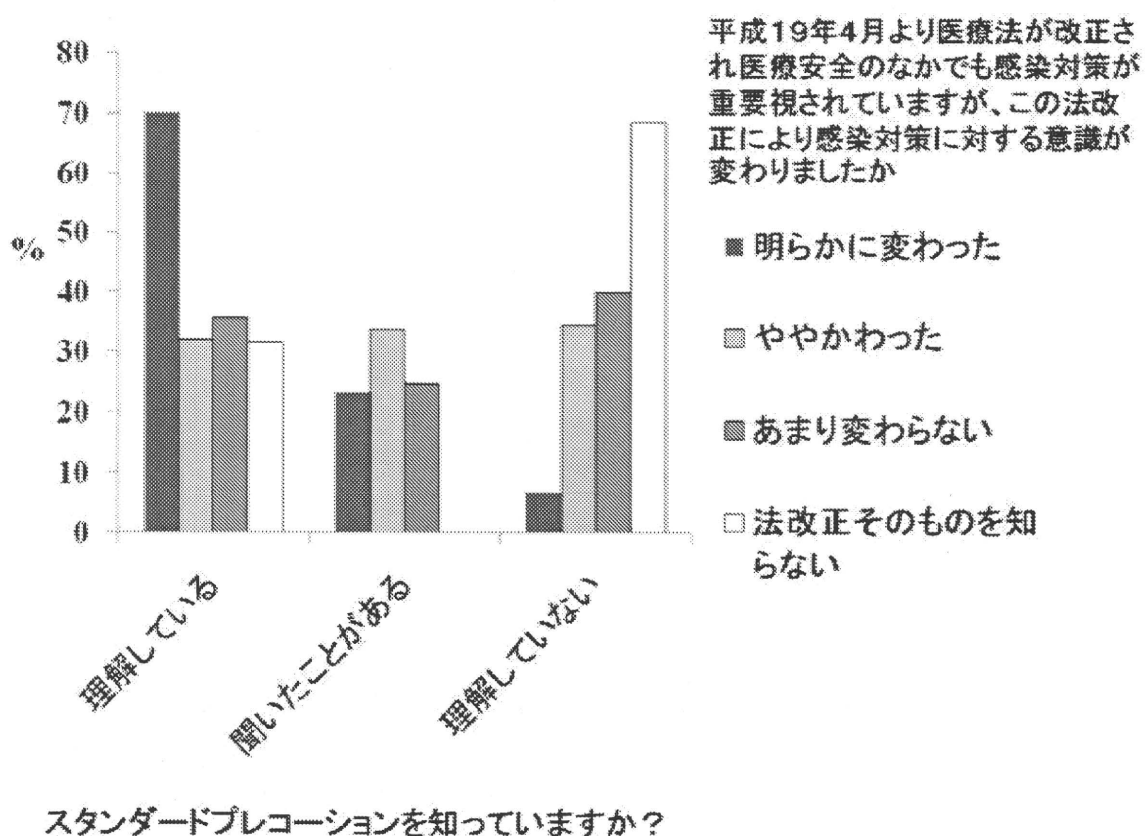


図11 医療法の改正による意識変化とハンドピースの交換

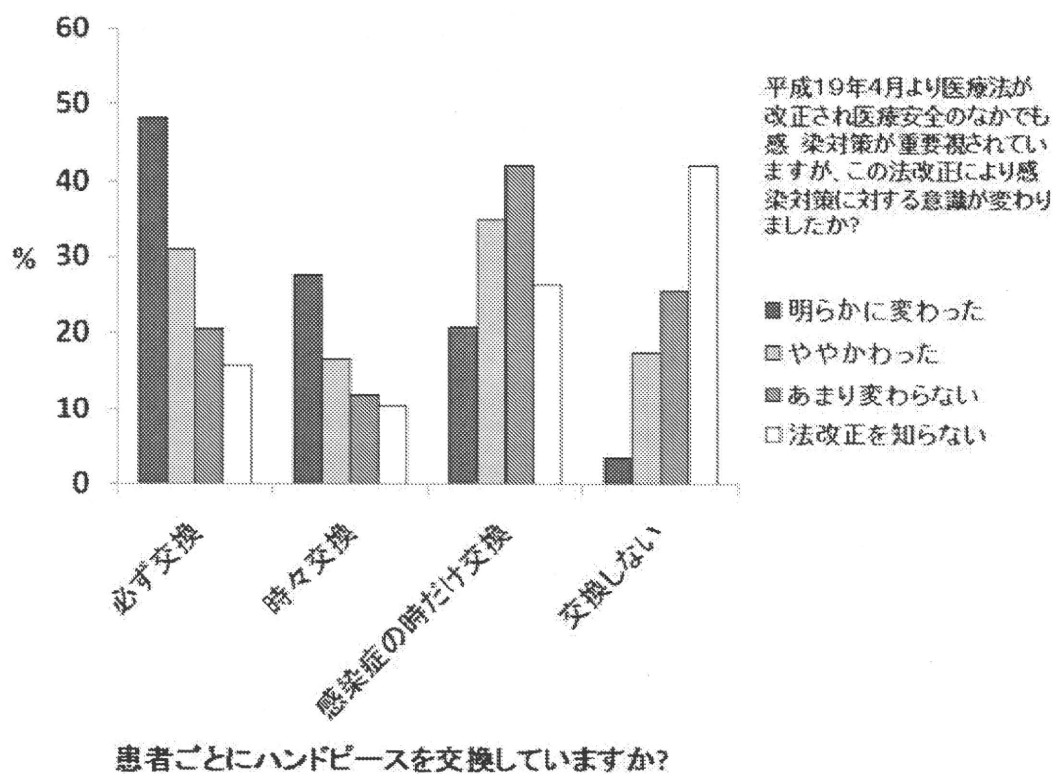


図12 医療法の改正による意識と口外バキュームの設置

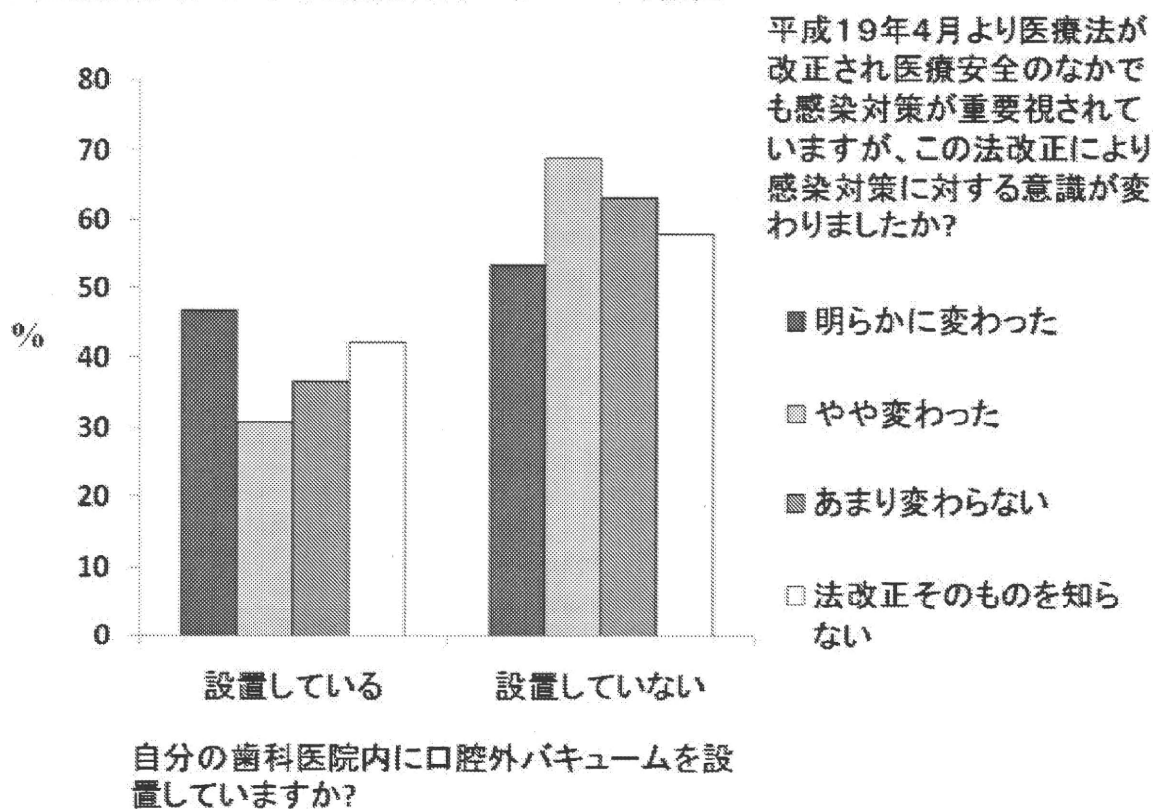
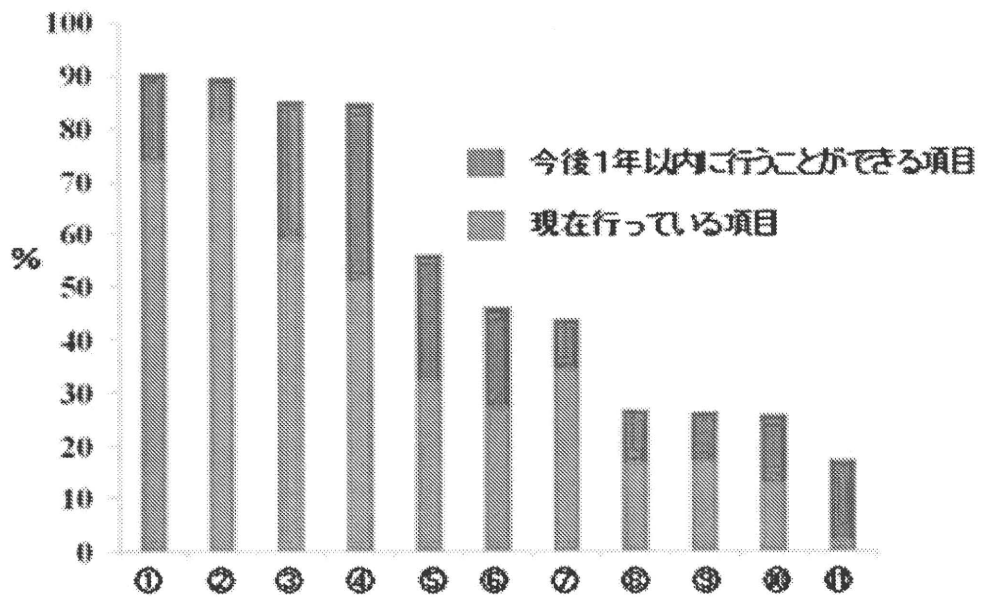


図13 今後1年以内にはできる項目と現在行っている項目

- ① 防護用めがね、グローブの使用
- ② 同診系の作製
- ③ 院内感染対策のスタッフへの教育
- ④ 院内感染対策の講習会への参加
- ⑤ スタッフのB型肝炎ワクチンの接種
- ⑥ 患者ごとのタービンヘッドの交換
- ⑦ 口外バキュームの設置
- ⑧ 診療前のデンタルユニット内給水系の除菌処置
- ⑨ 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
- ⑩ 診療終了後のデンタルユニット周囲の機器上の除菌処置
- ⑪ 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および残留塩素の検査



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

「デンタルユニット周囲汚染防止システムの標準化の検討」

主任研究者：泉福英信（国立感染症研究所・細菌第一部・室長）

分担研究者：小沢寿子（鶴見大学・歯内療法学・講師）

協力研究者：井上一彦（国立保健医療科学院・口腔外保健部・協力研究員）

研究要旨：歯科治療は唾液、血液等の飛び散りが多く、診療終了後デンタルユニット周囲が微生物に汚染されている可能性が高い。近年医療機関で、多剤耐性 *Acinetobacter* や NDM-1（ニューデリーメタロー・ラクタマーゼ）を産生する多剤耐性菌による院内感染の問題が起こった。*Acinetobacter* や NDM-1 産生株である肺炎桿菌：*Klebsiella pneumoniae* は口腔においても検出され、特に高齢者、全身疾患患者において日和見菌として存在している。口腔内に存在する *Acinetobacter* や *Klebsiella pneumoniae* が口腔内で多剤耐性化し、歯科治療において飛び散り、周囲に汚染している可能性がある。これらの微生物が口腔にどの程度存在し、またどの程度歯科治療後デンタルユニット周囲に飛散しているか把握することを目的として検討を行った。また、その汚染状況を改善するため、過酸化水素水対応型デンタルユニットや機能水対応型デンタルユニットなどを使用して、どの程度改善するか検討することも目的とした。現在、その汚染程度を把握する簡易な方法がなく、苔口班で行っているルシフェラーゼ反応を利用した ATP 法を利用し、除菌効果の評価を行うことにした。その結果、過酸化水素水や機能水は、有意に ATP 法により評価された汚染レベルを低下させるのに有効であることが明らかとなった。今後、*Acinetobacter* や *Klebsiella pneumoniae* への効果も含め総合的に検討する予定である。

A. 目的：

口腔に病原性微生物が感染するのを制御しているのは、口腔微生物のなかでも特に多数を占める *Streptococci*, *Lactobacilli*, *Actinomyces* などの乳酸産生菌などを含む菌群である。これらの菌は、現在では 700 種類いるとされ、歯表面では唾液蛋白質を介して付着、増殖し、微生物間コミュニケーションのもと

にバイオフィーム（歯垢）という宿のなかで共生している。口腔粘膜上においても上皮細胞や唾液成分と相互作用しながら、健康な細菌叢が形成されている。これの口腔細菌叢は、宿主の防御力とバランスを取りながら、ダイナミックに細菌間シグナルを返して口腔表面に形成されて、安定して存在している。しかし、食生活の変化、加齢、全身疾患、病原性の

強い微生物の全身感染、糖尿病などの生活習慣病等が起ると、正常な微生物ネットワークが崩れ、時間および慢性的な症状の経過とともに病原性微生物が蓄積し口腔疾患および全身疾患の発症につながっていく。

口腔常在細菌叢には、上述した細菌群以外に日和見菌と言われる免疫力が低下したときに多く検出される菌群が存在している。要介護高齢者、造血幹細胞移植、化学療法、HIV 感染症、周術期関連をはじめとした免疫抑制患者において、特に日和見菌感染が口腔に増加してくる。長期間の入院、長時間の手術によっても、日和見菌が増加してくる。

近年医療機関で、多剤耐性 *Acinetobacter* や NDM-1 (ニューデリーメタロー・ラクタマーゼ) を産生する多剤耐性菌による院内感染の問題が起こった。*Acinetobacter* や NDM-1 産生株である肺炎桿菌：*Klebsiella pneumoniae* は口腔においても検出され、特に高齢者、全身疾患患者において日和見菌として存在している。湿潤環境を好みかつ乾燥環境でも長く生息できる *Acinetobacter* は、多剤耐性化した場合、医療において脅威になる。しかし、これらの菌の病原性はもともと低く、通常の免疫力があれば感染症を引き起こすことはない。例えば口腔に存在していたとしても、通常の歯科治療の際になにも問題とならない。しかし、口腔にバイオフィルムが形成されると、その中で遺伝子のやり取りが活発になり抗生物質耐性に関わる遺伝子も菌間で伝播するようになる。その結果、口腔バイオフィルム内で streptococci のみならず *Acinetobacter* や *Klebsiella*

*pneumoniae* なども多剤耐性化してくる恐れがある。

そこで、本研究では口腔内に *Acinetobacter* や *Klebsiella pneumoniae* がどの程度存在し、またそれらの菌が多剤耐性化していないか把握することを目的として検討を行った。また、デンタルユニット周囲の汚染防止方法として、機能水による効果および *Acinetobacter* や *Klebsiella pneumoniae* を含む環境微生物への効果についても併せて検討することを目的とした。

汚染状況を評価する方法として、ルシフェラーゼ反応を利用した ATP 測定装置が開発され、簡便な測定方法として注目されている。そこで本研究では、この ATP 方を用いてその汚染除去の評価を行った。

## B. 調査対象及び解析方法

本年 9 月に話題となった多剤耐性アシネトバクターや肺炎桿菌は、高齢者や全身疾患患者において日和見菌として存在し、口腔内においても検出される。また、湿潤環境を好みかつ乾燥環境でも長く生息できるため、もし多剤耐性化した場合、デンタルユニットに付しているハンドピースやスリーウェイシリンジ等を介した感染が懸念される。

そこで、歯科大学病院に設置されたデンタルユニットを対象とした微生物汚染調査に、アシネトバクターや肺炎桿菌 (*Klebsiella pneumoniae*) を追加することとした。さらに、より正確な微生物除去効果を検証するために、現在対象としている過酸化水素水対応型デンタルユニットに加え、同院内の微酸性水対応型デンタルユニットについても追加検討を行うことにした (各



1台)。

*Acinetobacter baumannii*は口腔やデンタルユニット周囲から滅菌綿棒によるスワブ法によりサンプル採取し、普通寒天培地で培養。菌体の同定にはrpoB遺伝子の高変異性断片を増幅するようにプライマーを設計しPCRにて遺伝子増幅。遺伝子シーケンスを行い、同定する。

*Acinetobacter baumannii*の多剤耐性は、カルバペネム、アミノグリコシド、フルオロキノロン系の抗生物質を用いて、検討する。

*Klebsiella pneumonia* もは口腔やデンタルユニット周囲から滅菌綿棒によるスワブ法によりサンプル採取し、BTB-乳糖培地、マッコンキー培地を用いて、分離し、遺伝子プライマーを用いて同定し、多剤耐性は抗生物質による耐性と、カルバペネマーゼ遺伝子の増幅により検討する。

今までは歯科大学病院によるATP法での微生物汚染検査法の検討のみであったが、研究開始後に、急速にATP法での検討を行える歯科診療所が確保できた。歯科診療所は国内の歯科医療機関の多くを占めるため、この研究成果は貴重なデータとなりうる。

現在計画中の歯科診療所としては、東京都、千葉県、埼玉県、神奈川県からの10か所を予定している。

○非特異的微生物による汚染の測定方法  
ATP測定

A、診療後の歯科医院(歯科用ユニット)での洗浄力の評価

歯科診療所でATP法を用い院内衛生環境を調査し、歯科用ユニット回りで汚染度が高いことをATP値で示した。そこで2歯科

医院において、ATP値の高い主に歯科ユニット回り10か所(受付机、院長室机、印象コーナー、ユニット椅子、ユニットテーブル、スピットン、パネルスイッチ、ライト取っ手、ユニット取っ手、流し)で診療終了直後に試料を採取し、KIKKOMAN LUMITESTER PD-10N<sup>®</sup>を用いてATP値を算出した。その後、各測定区域とユニット毎に電解アルカリ洗浄水とアルカリ系の洗浄剤であるA剤、B剤をスプレータイプの容器に入れて薬液を噴霧して洗浄し(清潔な布で清拭)、ATP値を算出し洗浄力の比較を行った。

B、血液で汚染された歯科用器具の洗浄力と細菌学的検査結果の比較

抜歯直後に滅菌されたコントラ用バーを抜歯窩に浸した後、術前として抜歯窩に浸したバーの汚れを清拭しATP値を測定した。その後、そのバーを電解アルカリ洗浄水、A剤、B剤10mlにそれぞれ5分間浸した。その後水道水で30秒間洗浄しswab法を用いて検体を採取後、細菌学的検査とATP値測定を行った。また、通法に従い好気性菌の培養を行った。

C、結果

○「給水汚染防止システムを取り入れたデンタルユニットの微生物汚染除去効果の検証」

現在、培養により*Acinetobacter baumannii*や*Klebsiella pneumonia*の採取、および同定方法の検討を行っている最中である。平成23年度には、その結果を報告できる予定である。

○「歯科用器具やユニット周囲における微生物汚染検査法の検討」

術前 ATP 値は  $2,073 \pm 145$ RLU (MEAN $\pm$ SE) であったが、電解アルカリ洗浄水で噴霧後洗浄した区域の ATP 値は  $143 \pm 92$  RLU で最も低く、A 剤噴霧洗浄後の ATP 値は  $731 \pm 234$ RLU、B 剤は  $463 \pm 101$  RLU であった。A 歯科では電解アルカリ洗浄水群と A 剤群、電解アルカリ洗浄水群と B 剤群で統計学的有意差が認められ (図 1,  $P < 0.05$ )、B 歯科では術前; $773.1 \pm 157$  RLU、電解アルカリ洗浄水; $199.4 \pm 85.1$  RLU、A 剤; $1,221.8 \pm 831.1$ RLU、B 剤; $427.3 \pm 145.9$  RLU であり、術前と電解アルカリ洗浄水群で有意であった ( $P < 0.01$ )。電解アルカリ洗浄水の洗浄力は A 剤、B 剤よりも優れていることが示唆された。ATP 法は病院での洗浄の評価方法としても使用され、500RLU 以下が洗浄の基準とされている。電解アルカリ洗浄水の洗浄力はこの基準値以下であった。

## 2. 血液で汚染された歯科用器具の洗浄力と細菌学的検査結果の比較

術前 ATP 値は  $925, 157 \pm 16, 203$ RLU であったが、電解アルカリ洗浄水で処理した器具の ATP 値は  $326 \pm 48.9$ RLU であり、A 剤の ATP 値は  $2,159 \pm 1,171$  RLU、B 剤は  $972 \pm 446$ RLU、術前と洗浄後の各洗浄剤で有意差が認められた ( $P < 0.01$ , 図 2)。然し、電解アルカリ洗浄水群と A 剤群、B 剤群の間には有意差は認められなかったが、従来型洗浄剤と同等の洗浄力があることが示唆された。強アルカリ水は血液蛋白除去に優れているので、不純物を可及的に含まない電解アルカリ洗浄水の強化された蛋白除去力を例数を追加して評価する必要がある。細菌学的検査結果は術前には口腔内常在菌である  $\alpha$ -*Streptococcus*,  $\gamma$ -*Streptococcus*, *Neisseria sp.* 等が検出されたが、電解ア

ルカリ洗浄水、A 剤、B 剤で処理した器具からは菌は検出されず確実な消毒力が確認された。

## D. 考察

### 1. デンタルユニット周囲の機能水の消毒および洗浄効果

歯科治療後 ATP 値は  $2,073 \pm 145$ RLU (MEAN $\pm$ SE) であったが、電解アルカリ洗浄水で噴霧後洗浄した区域の ATP 値は  $143 \pm 92$  RLU で最も低く、A 剤噴霧洗浄後の ATP 値は  $731 \pm 234$ RLU、B 剤は  $463 \pm 101$  RLU であった。A 歯科では電解アルカリ洗浄水群と A 剤群、電解アルカリ洗浄水群と B 剤群で統計学的有意差が認められ、B 歯科では術前; $773.1 \pm 157$  RLU、電解アルカリ洗浄水; $199.4 \pm 85.1$  RLU、A 剤; $1,221.8 \pm 831.1$ RLU、B 剤; $427.3 \pm 145.9$  RLU であり、術前と電解アルカリ洗浄水群で有意であった ( $P < 0.01$ )。電解アルカリ洗浄水の洗浄力は A 剤、B 剤よりも優れていることが示唆された。ATP 法は病院での洗浄の評価方法としても使用され、500RLU 以下が洗浄の基準とされているが、電解アルカリ洗浄水の洗浄力はこの基準値以下であった。

### 2. 血液で汚染された歯科用器具の洗浄力と細菌学的検査結果の比較

歯科治療後 ATP 値は  $925, 157 \pm 16, 203$ RLU であったが、電解アルカリ洗浄水で処理した器具の ATP 値は  $326 \pm 48.9$ RLU であり、A 剤の ATP 値は  $2,159 \pm 1,171$  RLU、B 剤は  $972 \pm 446$ RLU、術前と洗浄後の各洗浄剤で有意差が認められた。然し、電解アルカリ洗浄水群と A 剤群、B 剤群の間には有意差は認められなかったが、従来型洗浄剤と同等の

洗浄力があることが示唆された。強アルカリ水は血液蛋白除去に優れているので、不純物を可及的に含まない電解アルカリ洗浄水の強化された蛋白除去力を例数を追加して評価する必要がある。細菌学的検査結果は術前には口腔内常在菌である  $\alpha$ -*Streptococcus*,  $\gamma$ -*Streptococcus*, *Neisseria sp.* 等が検出されたが、電解アルカリ洗浄水、A 剤、B 剤で処理した器具からは菌は検出されず確実な消毒力が確認された。

上述のようにルシフェラーゼ反応を利用した ATP 法を利用し、汚染防止効果の評価を行うことができた。その結果、機能水は、有意に ATP 法による分析により汚染レベルを低下させるのに有効であることが明らかとなった。

#### E. 結論

ATP 法は、デンタルユニットの汚染評価に有用である。電解アルカリ洗浄水は従来型のアルカリ系洗浄剤と同等かそれ以上の洗浄力があることが示唆された。

#### F. 研究成果発表

##### 論文発表

1. Moriyuki Nakamura, Taisuke Fujibayashi, Akira Tominaga, Norifumi Satoh, Taketo Kawarai, Osamu Shinozuka, Haruo Watanabe, Tsuneyoshi Yamazaki, and Hidenobu Senpuku. Hinokitiol inhibits *Candida albicans* adherence to oral epithelial cells, *Journal of Oral Biosciences*, 52: 42-50, 2010.
2. Tadayoshi Arakawa, Takeshi Fujimaru, Tsutomu Ishizaki, Hiroaki Takeuchi,

Masato Kageyama, Takuji Ikemi, Nobuhiro Hanada, Haruo Watanabe, and Hidenobu Senpuku. Unique functions of hydroxyapatite to adherence of mutans streptococci. *Quintessence International*. 41(1):e11-9. 2010.

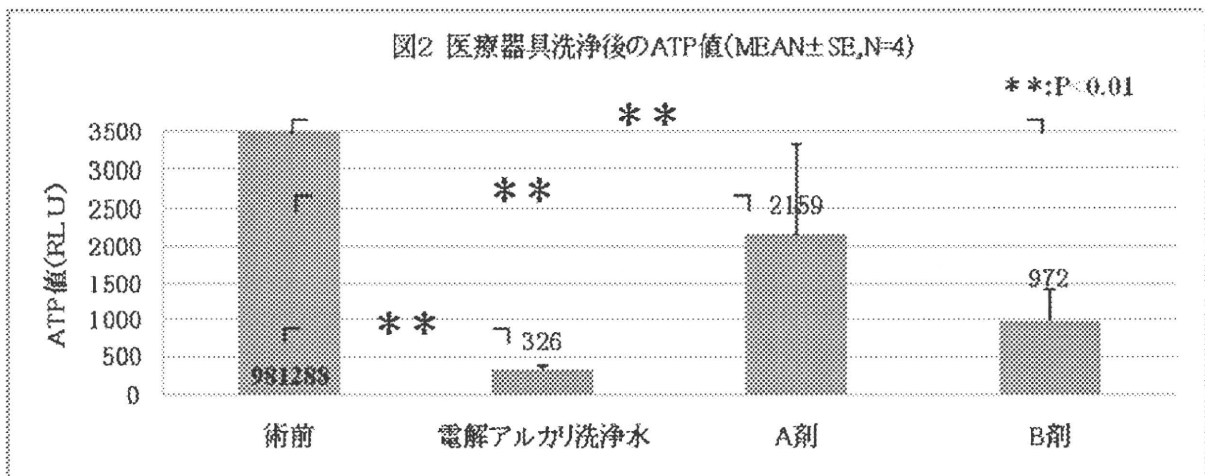
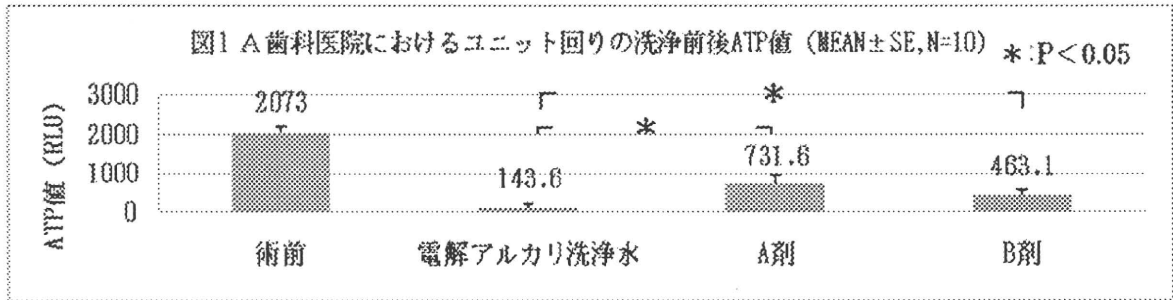
3. Yoshihide Nishiyama, Erika Inaba, Hiroshi Uematsu and Hidenobu Senpuku. Effects of mucosal care on oral pathogens in professional oral hygiene to the elderly. *Archives of Gerontology & Geriatrics*. 51: e139-e143. 2010.
4. Hidenobu Senpuku, Hideo Miyazaki, Saori Yoneda, Akihiro Yoshihara, and Akio Tada. A quick statistically accurate diagnosis for caries risk in the elderly. *Clinical Laboratory*. 2010;56(11-12):505-12
5. Kentaro Okuda, Nobuhiro Hanada, Yoshie Usui, Hiroaki Takeuchi, Hidehiko Koba, Ryoma Nakao, Haruo Watanabe, and Hidenobu Senpuku. Inhibition of *Streptococcus mutans* adherence and biofilm formation using analogues of the SspB peptide. *Archives of Oral Biology*. 55: 754-762. 2010.
6. 泉福英信、多剤耐性菌アシネトバクター & NDM-1 の歯科医療における対応、*日本歯科評論*、2010、11: 82-86.

##### 学会発表

1. 西山佳秀、植松宏、泉福英信、第59回日本口腔衛生学会・総会、新潟、2010年10月8日
2. 泉福英信、歯科医療における院内感染の評価指標の確立とその有効性の検

証、第59回日本口腔衛生学会・総会、  
新潟、2010年10月8日

G. 知的財産権の出願・登録状況  
該当なし



平成 22 年度厚生労働省科学研究費補助金（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防止システム普及のための評価指標の標準化とその応用に  
ついて

### 分担研究報告書

歯科用ユニット内微生物汚染除去システムを利用した院内感染防止システムの構築

分担研究者：小澤寿子（鶴見大学歯学部・歯科保存学第二講座・講師）

協力研究者：長谷川（中野）雅子（鶴見大学歯学部・歯科保存学第二講座・助教）

高尾亜由子（鶴見大学歯学部・口腔細菌学講座・助教）

**研究要旨：**歯科用ユニットの給水管路（DURL）のバイオフィルム形成と水汚染について、1993年より報告されている。このDURLの汚染対策として、新しい水回路クリーンシステム搭載の歯科用ユニットが2008年および2010年に開発された。本研究では、鶴見大学歯学部附属病院に設置された新しい歯科用チェアユニットに装備された2種類のクリーンシステムの有効性について評価した。

歯科用チェアユニットは日常的に歯科診療に使用し、定期的にハイスピードハンドピース部、コップ給水等から水サンプルを採取し、残留塩素濃度測定、微生物学的分析を行なった。その結果、これらの新クリーンシステムはDURLの水の汚染対策として有効であることが示唆された。

また、歯科用ユニット水回路より分離した従属栄養細菌に対する過酸化水素水（ $H_2O_2$ ）および微酸性電解水の殺菌効果について検討を行なった。その結果、従属栄養細菌の種類により殺菌効果は異なっていた。また $H_2O_2$ および微酸性電解水の殺菌作用を効果的に発揮するには、各々の特性を生かした作用時間の設定が必要であることがわかった。

#### A. 研究目的

歯科用チェアユニットのタービン、シリンジなどを通して排出される水の汚染度は高く $10^4 \sim 10^7$  CFU/ml に達すると報告されている。その微生物の大部分は一般的な従属栄養性水生細菌であるが、易感染性宿主では日和見感

染症を起す可能性のある *Pseudomonas*, *Legionella*, *Mycobacterium*, *Candida* なども検出されている。そのため、汚染水から起こる疾患のリスクは、高齢者、幼児、そして免疫不全性疾患患者で高くなり、また心疾患患者にも注意が必要である。

DUWL においては、①直径が小さく、流量に相対して表面積が大きい、②チューブ内の水には、高圧がかからない、③水流の速度が壁近くでは遅い、という問題点がある。チューブ内の水流は、中央では流れが最も速いが外側にいくにつれて遅くなり、チューブの内壁付近では流速は0に近くなってバイオフィーム形成が起こるといった問題点がある。すなわち、流入する水の中には微生物が少なくても、持続的に存在するとバイオフィーム形成の原因となり、その中を水が流れるのでバイオフィームから微生物を巻き込んだ汚染水として流出する。

DUWL の汚染対策の基準として、米国の American Dental Association では歯科用ユニット水の水質基準を従属栄養細菌で 200 CFU/ml とし、米国疾病対策センターCenters for Disease Control & Preventionでは、非外科的処置の場合、米国の飲料水の水質基準従属栄養細菌 500 CFU/ml 以下を推奨している。また、骨削除など外科的処置時には、滅菌水を使用することを提示している。しかしながら、日本では歯科用ユニット水の水質基準は提示されていないのが現状である。

DUWL 汚染対策として 2008 年試作された H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 希釈液 (1000 ppm) による自動洗浄装置を組み込んだ歯科用チェアユニットの新クリーンシステムの有効性について、さらに微酸性電解水の生成供給装置を組み込んだ歯科用チェアユニットでその有効性について評価した。

また、DUWL から分離された従属栄養細菌に対する H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> および微酸性電解水の殺菌効果を検討した。

## B. 研究方法

1) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 希釈液 (1000 ppm) による自動洗浄装置を組み込んだシステム (2008 年 11 月より鶴見大学歯学部附属病院保存科診療室に設置した歯科用チェアユニット: スペースライン™ イムシアⅢ型, (株)モリタ社)

毎日の診療後に備え付けのタンクに入った H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 希釈液 (1000 ppm) をハイスピードハンドピース: H-1, ロースピードハンドピース, 3way シリンジ, 超音波機器: US, コップ給水の DUWL 内に流して洗浄後、夜間および休日中滞留させ、翌日以降、診療開始前に残留水排出用フラッシング装置を使用して、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 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。H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> の供給と排出、水道水への入れ替えは、コックとボタン操作により自動的に行うことができる。他のハイスピードハンドピース回路 (H-2) には別管路から水道水を供給し、毎朝診療前にフラッシングを行った。また、2 本のハイスピードハンドピースの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使用した。

毎月 1 回診療後、H-1, H-2, コップ給水、ユニット給水元から流出する水を滅菌容器に採取して、残留塩素濃度を測定後、R2A 寒天培地上で 25°C, 7 日間培養後にコロニー数を

測定した。同時に標準寒天培地上で 37°C, 48 時間の培養を行った。さらに検出された優勢菌種の発育コロニーに対して、16S rDNA の塩基配列解析を行った。

2) 微酸性電解水の生成供給装置を組み込んだシステム (2010 年 7 月より鶴見大学歯学部附属病院保存科診療室に設置した歯科用チェアユニット: スペースライ<sup>TM</sup> イムシアⅢ型, (株)モリタ社)

生成供給装置から微酸性電解水を DURL (ハイスピードハンドピース: H-1, ロースピードハンドピース, 3way シリンジ, 超音波機器: US, コップ給水) に常時供給できる。他のハイスピードハンドピース回路 (H-2) には別管路から水道水を供給し、毎朝診療前にフラッシングを行った。また、2 本のハイスピードハンドピースの稼動時間は積算タイマー記録を目安に均等になるように使用した。

鶴見大学歯学部倫理審査委員会の審査、承認を得て 2010 年 7 月本学附属病院に設置し診療に使用した。また患者に対しては、診療前にシステムおよび微酸性電解水について説明し承諾書への署名を得た後に使用した。診療後、微酸性電解水についてアンケート調査を実施した。

毎月 1 回診療開始前、H-1, H-2 (フラッシング前後)、コップ給水、ユニット給水元から流出する水を滅菌容器に採取して、残留塩素濃度を測定後、R2A 寒天培地上で、25°C, 7

日間培養後にコロニー数を測定した。同時に標準寒天培地上で 37°C, 48 時間の培養を行った。さらに検出された優勢菌種の発育コロニーに対して、16S rDNA の塩基配列解析を行った。

3) DURL より分離された従属栄養細菌に対する H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> の殺菌効果

水道水使用の歯科用チェアユニットハイスピードハンドピース (H-2) 排水より分離された *Methylobacterium populi*, *Sphingobium chlorophenolicum* 2x10<sup>5</sup> CFU/ml に H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (125, 250, 500 ppm) を接種 (1, 16, 24 時間) 後に 0.5% チオ硫酸ナトリウム液で中和後、R2A 寒天培地上で 25°C, 7 日間培養し、コロニー数を算定した。

4) DURL より分離された従属栄養細菌に対する微酸性電解水の殺菌効果

水道水使用の歯科用チェアユニットハイスピードハンドピース (H-2) 排水より分離された 2x10<sup>5</sup> CFU/ml に *Sphingomonas* spp., *Mycobacterium* spp., *Methylobacterium* spp. に微酸性電解水を接触 (0, 15, 30 秒) 後に 0.5% チオ硫酸ナトリウム液で中和後、R2A 寒天培地上で 25°C, 7 日間培養しコロニー数を算定した。さらに分離菌を 96 穴平底マルチプレートに接種、25°C にて 3, 5 日培養後のバイオフィーム状態の菌に、PBS にて洗浄後、微酸性電解水を作用させ、反応時間後にチオ硫酸ナトリウムにて

反応を停止させ、再びPBSにて洗浄し、マルチプレートリーダー (Multiskan<sup>®</sup>; Labsystems) により微酸性電解水を作用する前後の吸光度 (OD620nm) を測定した。さらにPBSを除去後、Alamar Blue (Invitrogen) とR2Aの混合液を各ウェルに添加し、微酸性電解水を作用後の微生物の代謝活性を、室温における蛍光強度 (励起波長: 530nm, 蛍光検出波長: 590nm) の経時変化をマイクロプレートリーダー (CYTOFLUOR<sup>™</sup>TM<sup>™</sup>/SUP<sup>™</sup>II, PerSeptive Biosystems) にて測定した。

### C. 結果

1) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>希釈液 (1000 ppm) による自動洗浄装置を組み込んだシステムについて

残留塩素濃度は、4ヶ月目より、H-2の残留塩素濃度は0.10~0.37 ppmに低下し、H-1、コップ給水との相違が認められた。14~20ヶ月目の間、H-1、H-2、コップ給水の残留塩素濃度の値は混在していた。21ヶ月以降、H-2の残留塩素濃度は、24ヶ月目にコップ給水よりわずかに高かったが、H-1の残留塩素濃度 (0.64~0.77 ppm) より低く、0.06~0.71 ppmであった。一方、ユニット給水元から採取した水の残留塩素濃度はH-1、H-2、コップ給水よりも高い値を示した。

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>による洗浄が行われているコップ給水に水の汚染は認められなかった。また同様に、H-1では10ヶ月後までは汚染は認められなかったが、11ヶ月以降少量のコロニーが観察された。またカップリング部の汚染が認められた21ヶ

月後に1.1×10<sup>3</sup> CFU/mlが検出されたが、カップリング除去後の水質検査では検出限界以下となり、またカップリング部の汚染洗浄後25ヶ月まで検出限界以下であった。

一方、洗浄システムから分離したH-2では、残留塩素濃度の低下が認められた4か月以降、微生物のコロニーが検出されはじめ、H-1との相違が認められたが20ヶ月までは3.7×10<sup>2</sup> CFU/ml以下であった。H-1と同様にカップリング部の汚染が認められた21ヶ月後には、7.2×10<sup>3</sup> CFU/mlが検出されたが、カップリング除去後の水質検査では6.7×10<sup>2</sup> CFU/mlとなり、またカップリング部の汚染洗浄後はカップリング装着時でも3.0×10<sup>2</sup> CFU/ml以下であった。

ユニット流入元の水の微生物による汚染状況は4か月目までは検出限界以下であった。5ヶ月目から9ヶ月目にかけて、10~4.4×10<sup>2</sup> CFU/ml検出されたが、水採取部のバルブを洗浄消毒後、10ヶ月以降は7×10<sup>1</sup> CFU/ml以下であった。

いずれの場合も同時に標準寒天培地上で37°C、48時間の培養を行った結果では、一般細菌は検出されなかった。

塩基配列解析した優勢菌種は、*Methlobacterium populi*、*Sphingobium chlorophenolicum*、*Caulobacter vibrioides*であった。

2) 微酸性電解水の生成供給装置を組み込んだシステムについて

6ヶ月間、微酸性電解水を使用した管路か



らは10~22ppm間で水道水に比べ高い塩素濃度を維持していた。H-1, US, コップ給水, 給水元からはコロニー発育は認められなかった。一方, H-2からは1ヶ月目にフラッシング後910 cfu/ml, 3, 4ヶ月目に230 cfu/ml, 5ヶ月目に20 cfu/mlのコロニーが認められた。

塩基配列解析した優勢菌種は, *Sphingomonas* spp., *Mycobacterium* spp., *Methylobacterium* spp. であった。

アンケート調査の結果, 水の目的や効力・安全性について理解を得られていた。また微酸性水について, 臭い・味・色が気になるという意見はほとんどなく, 今後の使用について否定的な感想は見られなかった。

3) DUWL から分離された2種類の従属栄養細菌はH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>の感受性が異なった。感受性の低いものでも, 500ppm, 8時間作用することによって高い殺菌効果を示した。

4) 微生物の種類によって感受性が異なり, 30秒の微酸性電解水との接触で

*Sphingomonas* spp.と*Methylobacterium*

spp. は検出限界以下となったのに対し,

*Mycobacterium* spp. は1%弱が残存した。1時間の微酸性電解水の作用により, バイオフィーム状態の菌の代謝活性は10~50%程度となった。

#### D. 考察

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>をDUWL洗浄に選択した理由は, 人体に対する安全性が比較的高く生物体以外の表面では殺菌消毒効果が持続し, 管路の部材に対する腐食性が少ないためである。

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>による洗浄が行われているコップ給水に水の汚染は認められなかった。また同様にH-1では, 10ヶ月後までは汚染は認められなかったが, 11ヶ月以降の30~40 CFU/mlコロニーが観察された。研究用装置の設定上の不具合が原因であったと考えられ, 設定変更後は良好であった。また, 21ヶ月後に10<sup>4</sup> CFU/mlレベルの水質汚染がH-1, H-2共に認められたが, カップリング除去後およびカップリング部の洗浄直後は検出限界以下になったことから, 給水管路内の汚染ではなく, カップリング内部の特に給水管路など水が滞留する部分からの汚染があったと考えられた。カップリング部はハンドピース未装着時には専用キャップを装着するよう努めているが, キャップ未装着時の外部からの汚染, キャップ自体の汚染を回避することが必ずしもできないため, カップリング部の定期的洗浄を行うことが必要である。

ユニット給水元では, 5ヶ月目から9ヶ月目にかけて10~4.4x10<sup>2</sup> CFU/ml検出された。採取口バルブの交換を行った後検出限界以下となったので, 水自体の汚染ではなく水採取口の汚染が原因と考えられた。

洗浄システムから分離し, 通常どおり水道水のみを使用しているH-2では, 残留塩素濃度の低下が認められた4ヶ月以降, 微生物のコロニ

一が検出されはじめ、H-1との相違が認められた。しかしながら、診療後の水質検査で微生物が検出されたH-2においても、始業前のフラッシング後には、汚染は認められなかった。また、7ヶ月目より24週間、始業前と診療後の両方の測定した結果、始業前のフラッシング後には残留塩素濃度が高かったため、フラッシング後にH-2の水を使用することには問題がないと考えて日常臨床に使用している。

塩基配列解析の結果、優勢菌種は主に土壌など自然界に分布している従属栄養細菌の種類であった。従属栄養細菌は上水道にも含まれ、低栄養環境で体温より低い温度で生育しやすい。日本の水道水の水質基準の目標設定項目として、従属栄養細菌 2000 CFU/ml 以下（暫定）と提示されている。R2A 培地は、飲用水の従属栄養細菌の培養用に開発され、酵母エキスやカゼインペプトン量が標準寒天培地の5分の1であり、水道法の水質管理目標でも使用が指示されている培地であるため今回使用した。

微酸性電解水を使用した管路からは10～22ppmで水道水に比べ高い塩素濃度を維持していた。今回、土曜・日曜と2日間ユニットを使用していないという環境におかれた後に採取したが、これまで同管路からは微生物は検出限界以下で、微酸性水のDURLの汚染防止、管路内のバイオフィーム形成の阻止、抑制に効果があることが示唆された。一方、システ

ムから分離した水道水を使用しているH-2は2ヶ月目に微生物が検出限界以下となっているが、これは1ヶ月目において微生物が多量であったため、フラッシング時間を80秒から240秒へ延長し、その際洗浄を繰り返したためと思われる。このようなフラッシングによる効果は認められたが、H-2からは従属栄養細菌と考えられる微生物が検出されDURLとの相違が認められた。以上のことより、本システムはDURLの感染予防に対して、有効であると考えられる。本ユニットを使用した患者からも良好な評価を得られたことから、今後、使用期間をさらに延ばし、微酸性電解水の殺菌効果等の微生物学的検討を続けていく予定である。またユニットへの劣化、腐食評価などを行い、本システムの有効性を継続して評価し、さらにユニット部材質や使用機材についても検討していく所存である。

DURLから分離された2種類の従属栄養細菌は $H_2O_2$ の感受性が異なった。感受性の低いものでも、500ppm、8時間作用することによって高い殺菌効果を示した。 $H_2O_2$ を使った自動洗浄装置搭載のクリーンシステムの給水管路の排出された $H_2O_2$ の濃度は24時間後でも500ppmを維持していたことから、本クリーンシステムは臨床での歯科ユニットの水質維持にきわめて有用性が高いことが示唆された。

微酸性電解水は、浮遊状態の従属栄養細菌に対して短時間で顕著な殺菌効果を示したが、菌種による相違が認められた。またバイオフ

フィルム状態の微生物に対しては、今回の条件では1時間の接触によっても微生物の代謝活性を十分に低下させることはできなかった。微酸性電解水は多量に用いることが重要であることから、DUWL への微生物汚染対策として、微酸性電解水の特徴を生かした消毒、洗浄方法について、さらに検討する必要がある。

#### E. 結論

1. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> あるいは微酸性電解水を使用したクリーンシステムは DUWL 水の汚染対策として有効であることが示唆された。

2. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、微酸性電解水は浮遊状態の従属栄養細菌に対して殺菌効果を示したが、菌種による相違が認められた。

#### F. 学会発表

1) 中野雅子, 高尾亜由子\*, 木村泰子, 小澤寿子, 前田伸子\*, 新井 高, 歯科用ユニット水ラインより分離された従属栄養細菌に対する過酸化水素水の殺菌効果, 日本歯科保存学会 2010 年度春季学術大会 (第 132 回), 崇城大学市民ホール (熊本市民会館)・熊本市国際交流会館, 2010. 6. 4~5

2) 加藤大輔\*, 小山隆夫\*, 中野雅子, 新井 高, 前田伸子\* \*口腔細菌学教室 *Enterococcus faecalis* に対する各種根管消毒剤の抗菌効果の検討, 日本歯科保存学会 2010 年度春季学術大会 (第 132 回), 崇城大学市民ホール (熊本市民会館)・熊本市国際交

流会館, 2010. 6. 4~5

3) 中野雅子, 小澤寿子, 木村泰子, 新井 高  
クリーンシステムを搭載歯科用ユニット水ラインの評価と根管洗浄への応用

第 31 回日本歯内療法学会学十大会, 東京商工会議所, 2010. 7. 24-25.

4) Masako Nakano, Toshiko Ozawa, Hiroko Kimura, Arai Takashi  
Evaluation of a new clean system of dental unit water lines for root canal treatment 8<sup>th</sup>  
World Endodontic Congress, Greece, IFEA2010

#### G. 参考文献

1) Williams JF, Andrews N, Santiago JI: Microbial contamination of dental unit waterlines: current preventive measures and emerging options; Compend Contin Educ Dent 17: 691-709, 1996.

2) Miller CH: Microbes in Dental Unit Water: J Calif Dent Assoc 24, 47-52, 1996.

3) Barbeau J, Gauthier C, Payment P: Biofilms, infectious agents, and dental unit waterlines: a review; Can J Microbiol 44, 1019-1028, 1998.

4) Williams HN, Paszko-Kolva C, Shahamat M, Palmer C, Pettis C and Kelley J: Molecular techniques reveal high prevalence of Legionella in dental units; J Am Dent Assoc 127, 1188-1193, 1996.

- 5) Barbeau J, Tanguay R, Faucher E, Avezard C, Trudel L, Côté L, Prévost AP: Multiparametric analysis of waterline contamination in dental units; *Appl Environ Microbiol* 62, 3954-3959, 1996.
- 6) Mills SE, Lauderdale PW, Mayhew RB: Reduction of microbial contamination in dental units with povidone-iodine 10%; *J Am Dent Assoc* 113, 280-284, 1986.
- 7) Williams JF, Johnston AM, Johnson B: Microbial contamination of dental unit waterlines: prevalence, intensity and microbiological characteristics; *J Am Dent Assoc* 124, 59-65, 1993.
- 8) 荒木孝二, 臼井和弘, 毎熊容子, 黒崎紀正 : デンタルユニット水ラインの細菌汚染について ; *日歯保存誌* 43, 16-22, 2000.
- 9) Tall BD, Willams HN, George KS, Gray RT, Walch M: Bacterial succession within a biofilm in water supply lines of dental air-water syringes; *Can J Microbiol* 41, 647-654, 1995.
- 10) Infection control recommendations for the dental office and the dental laboratory; *J Am Dent Assoc* 127, 672-680, 1996.
- 11) Guidelines for infection control in dental health-care settings. *MMWR Morb Mortal Wky Rep* 55, 1-76, 2003.
- 12) Coan LL, Hughes EA, Hudson JC, Palenik CJ: Sampling water from chemically cleaned dental units with detachable power scalers; *J Dent Hyg* 81, 80, 2007.
- 13) Zhang W, Onyango O, Lin Z, Lee SS, Li Y: Evaluation of Sterilox for controlling microbial biofilm contamination of dental water; *Compend Contin Educ Dent* 28, 586-592, 2007.
- 14) Wirthlin MR, Marshall GW Jr, Rowland RW: Formation and decontamination of biofilms in dental unit waterlines. ; *J Periodontol* 74, 1595-1609, 2003;
- 15) Larsen T, Fiehn NE: The effect of Sterilex Ultra for disinfection of dental unit waterlines; *Int Dent J* 53, 249-254, 2003.
- 16) Schel AJ, Marsh PD, Bradshaw DJ, Finney M, Fulford MR, Frandsen E, Østergaard E, Ten Cate JM, Moorer WR, Mavridou A, Kamma JJ, Mandilara G, Stösser L, Kneist S, Araujo R, Contreras N, Goroncy-Bermes P, O'Mullane D, Burke F, O'Reilly P, Hourigan G, O'Sullivan M, Holman R, and Walker JT: Comparison of the Efficacies of Disinfectants To Control Microbial Contamination in Dental Unit Water Systems in General Dental Practices across the European Union; *Appl Environ Microbiol* 72, 1380-1387, 2006.
- 17) Walker JT, Bradshaw DJ, Fulford MR, Mars PD: Microbiological Evaluation of a Range of