

- Disinfectant Products To Control Mixed-Species Biofilm Contamination in a Laboratory Model of a Dental Unit Water System; *Appl Environ Microbiol* 69 , 3327-3332, 2003.
- 18) Meiller TF, Kelley JI, Baqui AA, DePaola LG. Laboratory evaluation of anti-biofilm agents for use in dental unit waterlines. *J Clin Dent* 12, 97-103, 2001.
- 19) 小澤寿子, 中野雅子, 新井 高, 前田伸子, 齊藤一郎: 歯科用ユニット水ラインのショックトリートメントの効果 - 鶴見大学歯学部附属病院での実践 - ; *日歯保存誌* 52, 363-369, 2009.
- 20) Meiller TF, Kelley JI, Zhang M, DePaola LG. Efficacy of A-dec's ICX dental unit waterline treatment solution in the prevention and treatment of microbial contamination in dental units. *J Clin Dent* 15, 17-21, 2004.
- 21) von Fraunhofer JA, Kelley JI, DePaola LG, Meiller TF. Effect of a dental unit waterline treatment solution on composite-dentin shear bond strengths. *J Clin Dent* 15, 28-32, 2004.
- 22) Ozawa T, Nakano M, Arai T. *In vitro* study of anti-suck-back ability by themselves on new high-speed air turbine handpieces. *Dent Mater J.* 29, 649-654, 2010.
- 23) Yabune T, Imazato S, Ebisu S. Assessment of inhibitory effects of fluoride-coated tubes on biofilm formation by using the *in vitro* dental unit waterline biofilm model. *Appl Environ Microbiol.* 74, 5958-5964, 2008.
- 24) 熊井慎太郎, 中野雅子, 金丸由幸, 小澤寿子, 新井高: 歯科用ユニットの洗浄・消毒への電解酸性機能水の応用に関する基礎的研究, *口腔機水誌* 7, 42-43, 2006.
- 25) 小林茉莉, 金石あずさ, 塚崎弘明, 竹内理, 芝燁彦, 川和忠治, 霜島正浩, 山之内和久, 井田博久: 電解酸性機能水を使用した歯科用ユニットの殺菌消毒効果, *口腔機水誌* 8, 44-45, 2007.

H. 知的財産権の出願, 登録状況  
検討中

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」

「バイオフィルム形成評価方法を利用した客観的な院内感染防止システム構築の検討」

「在宅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の検討」

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）

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）

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

① 細菌バイオフィルムは院内感染の元凶であり、環境感染の汚染源となっている。また、生体の細菌バイオフィルムは医学・歯学における個別の領域の枠を超えて総合的に理解されるべき病態であり、バイオフィルム感染症の予防と制御のための新しい治療法・医療材料・抗バイオフィルム剤の開発に向けてブレークスルーが求められている。そこで、バイオフィルム形成阻害剤を効率的にスクリーニングするための新規マイクロデバイスの開発を行った。デバイスに形成された緑膿菌バイオフィルムを共焦点レーザー走査型顕微鏡にて観察し、基本設計に問題のないことを確認した。設計の改良を重ねた結果、デバイスの基本設計がほぼ完成に近づいた。

② 医療依存度の高い入院患者に対して、口腔ケアを含む全身的な感染管理方法を確立することは重要である。そこで、障害者病棟の長期尿路カテーテル留置患者を対象として、歯垢と吸引痰からの日和見病原菌の検出状況を調査するとともに院内感染防止対策におけるエビデンスの確立を目的に分子疫学的検討を行った。その結果、長期尿路カテーテル留置患者の85%が歯垢や吸引痰に日和見病原菌を保有しており、半数以上の患者から比較的高い菌数で複数菌種が検出された。また、同一病棟内でのMRSAの交差感染が確認された。通常、歯垢や感染徴候のない患者に対する吸引痰の保菌調査は行わないので、口腔ケアや吸引が病原菌の伝播拡散の危険性を伴うことをコメディカルに啓発することが重要である。特に、歯科衛生士との連携による口腔ケアの改善が重要と考えられる。

A. 研究目的

① 細菌バイオフィルムは院内感染の元凶であり、環境感染の汚染源となっている。また、生体の細菌バイオフィルムは医学・歯学における個別の領域の枠を超えて総合的に理解されるべき病態であり、バイオ

フィルム感染症の予防と制御のための新しい治療法・医療材料・抗バイオフィルム剤の開発に向けてブレークスルーが求められている。そこで、バイオフィルム形成阻害剤を効率的にスクリーニングするための新規マイクロデバイスの開発を行った。

② 医療依存度の高い入院患者に対して、口腔ケアを含む全身的な感染管理方法を確立することは重要である。本年度は長期尿路カテーテル留置患者を対象として、歯垢と吸引痰からの日和見病原菌の検出状況を調査するとともに院内感染防止対策におけるエビデンスの確立を目的に分子疫学的検討を行った。以上の研究を推進することにより、在宅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を目指す。

## B. 研究方法

① 顕微鏡のステージに搭載可能なサイズで、多種類の薬剤の効果が評価できることをコンセプトとして、デバイスの設計を行った。デバイスに GFP (green fluorescent protein) 産生緑膿菌 *P. aeruginosa* OP14-210(pMF230)株を接種して、37°C、2時間放置したのち、人工尿を 20 mL/hr で灌流させ、バイオフィルムを形成させた。デバイスに形成されたバイオフィルムは、共焦点レーザー走査型顕微鏡(CLSM: Zeiss LSM 510)にて観察した。

② 慢性期中規模病院(1施設)の障害者病棟に入院している長期尿路カテーテル留置患者 9 名と以前に長期留置経過のあった患者 18 名、計 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。検体採取には日和見感染菌検査キット(BML 社・東京)を使用し、歯垢と吸引痰を採取した。採取時期は口腔ケア実施後 4 時間以降とした。対象者の左側上顎臼歯部 5・6・7 番相当部、頬側歯頸部を滅菌スワブにより 5 往復擦過し、採取した歯垢をカルチャー用滅菌チューブに挿入した。吸引痰の採取には気管内吸引キットを用い、鼻腔経由で下咽頭から気道内の痰を吸引して滅菌スピッツ

に採取後、滅菌スワブを吸引痰に 10 秒以上浸漬し、そのスワブをカルチャー用滅菌チューブに挿入した。細菌の菌種同定と概算菌数(+ :  $10^3$ , ++ :  $10^3 \sim 10^5$ , +++ :  $10^5$  CFU/mL)は BML 社に依頼した。BML 社の検査対象菌は、methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), methicillin sensitive *S. aureus* (MSSA), *Pseudomonas aeruginosa* (緑膿菌), *Serratia marcescens* (セラチア菌), *Klebsiella pneumoniae* (肺炎桿菌), *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*,  $\beta$  溶血性 *Streptococcus* 属であった。分離された MRSA(11 株)と緑膿菌(31 株)はパルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)法による遺伝子解析を行った。MRSA には制限酵素 *Sma* I、緑膿菌には *Spe* I を用い、常法により泳動後ゲルを撮影し、デンドログラムの類似係数 100%を同一株、85%以上を類似株とした。

## C. 研究結果

① 薬剤浸透タイプと薬剤混合タイプの 2 種類の構造のデバイスを作製した。薬剤浸透タイプは、バイオフィルム形成系と薬剤供給系が異なる二重構造とした。薬剤混合タイプは、バイオフィルム形成チャンネルに勾配をつけ、流速の変化によるバイオフィルム形成の変動を観察できる構造とした。最新型マイクロデバイスは、化合物無添加のコントロールを含む 9 種類のサンプルを同時に評価することができる。デバイスに形成された緑膿菌バイオフィルムを CLSM にて観察し、基本設計に問題のないことを確認した。薬剤混合タイプを用いて、抗菌薬(レボフロキサシンとホスホマイシン)の単独ならびに併用でのバイオフィルム形成阻害効果を検討した結果、キャピラリーフローセルシステムでの CLSM 画像と同様の

成績が得られた。設計の改良を重ねた結果、バイオフィーム形成阻害剤を効率的にスクリーニング可能なデバイスの基本設計がほぼ完成に近づいた。

② 長期尿路カテーテル留置患者 27 名の平均年齢は 76.6±15.3 歳、基礎疾患は遷延性意識障害や脳梗塞後遺症等であり、いずれも日常生活動作が著しく低下した患者であった。18 名の患者が気管切開を受け、そのうちの半数は人工呼吸器を装着していた。歯垢/吸引痰(名)からの主たる分離菌は、緑膿菌(15/16)、MRSA(8/4)、セラチア菌(8/8)、肺炎桿菌(3/4)であり、最も多く分離された菌種は緑膿菌であった。検出された菌数が比較的多い(+++)菌種は、緑膿菌、セラチア菌、肺炎桿菌の 3 菌種であった。歯垢/吸引痰から複数菌種が分離された患者は 12/11 名、菌数が比較的多い(+++)患者は 16/14 名であり、27 名の患者に感染徴候はなかった。歯垢や吸引痰に日和見病原菌を保有している患者は 23 名であった。PFGE 解析の結果、異なる患者間において類似係数 85%以上の株を MRSA は 2 組認めたが緑膿菌には認めなかった。

#### D. 考察

① バイオフィーム研究の基盤技術については、これまでも多くの提案がなされ、各種デバイスが開発されてきた。各々の菌種が単独あるいは複数で形成するバイオフィームは、環境条件により多様性に富む構造体となることから、構造体内部の微生物の生態は複雑で捉えがたい。従って、様々な研究手法による多面的アプローチが必要である。新規マイクロデバイスは、(1)顕微鏡のステージに設置可能、(2)培養しながら観察可能(サーモプレートで保温可能)、(3)チャンバーはステンレス製で、

耐薬品性に優れ、オートクレーブによる滅菌も可能、(4)チャンバー側面の各注入口はカニューラの外径に適合していて、チューブをワンタッチで接続可能、(5)市販のカバーグラス使用可能、(6)形成阻害剤のスクリーニングに最適、(7)複数の条件で同時に観察可能という特長を有する。本デバイスは特許技術実施許諾済みであり、各研究室の観察・検討内容に応じて、オリジナルのデバイスの製作(カスタムメイド)に対応できる体制が整っている。

② 障害者病棟の長期尿路カテーテル留置患者の 85%が歯垢や吸引痰に日和見病原菌を保有しており、半数以上の患者から比較的高い菌数で複数菌種が検出された。調査した全患者に感染徴候を認めなかったが、同一病棟内での MRSA の交差感染が確認された。通常、歯垢や感染徴候のない患者に対する吸引痰の保菌調査は行わないので、保菌状態が不明のまま口腔ケアや吸引が行われているのが現状である。口腔ケアや吸引が病原菌の伝播拡散の危険性を伴うことをコメディカルに啓発することが重要である。特に、歯科衛生士との連携による口腔ケアの改善が重要と考えられる。

#### E. 結論

近年、多剤耐性菌による感染症の医療現場への影響は一層拡大しており、バイオフィーム対策を含む環境感染対策の重要性が増している。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などの環境における細菌バイオフィーム対策にも留意する必要がある。新規マイクロデバイスを用い、抗バイオフィーム剤の開発を目指した各種阻害候補化合物のスクリーニングに取り組むことが求められている。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) 狩山玲子、公文裕巳：バイオフィルム形成とクオラムセンシング 臨床医学編「泌尿器感染症とバイオフィルム. 化学療法の領域 26(9): 71-78, 2010.
- 2) 狩山玲子、金原和秀、高野和潔、妹尾典久、大森啓士、光畑律子、桐田泰三、公文裕巳：新規マイクロデバイスに形成された緑膿菌性バイオフィルムの共焦点走査型顕微鏡観察. *Bacterial Adherence & Biofilm* (印刷中)

### 2. 学会発表

- 1) 25<sup>th</sup> International Conference on Polyphenols: Montpellier, France 2010, 8. 23-27  
「Urinary metabolites of cranberry polyphenols in human and their inhibitory effects on biofilm formation by *Escherichia coli*」  
Kimura Y., Ito H., Ohnishi R., Sasaki N., Kariyama R., Mitsuhata R., Kumon H., Kaneda M., Yoshida T., Hatano T.
- 2) 第 26 回 日本環境感染学会総会：横浜 2011, 2. 18-19  
「バイオフィルム形成阻害剤のスクリーニングに有用な新規マイクロデバイスの開発」  
狩山玲子、光畑律子、公文裕巳
- 3) 第 26 回 日本環境感染学会総会：横浜 2011, 2. 18-19  
「長期尿路カテーテル留置患者における歯垢および吸引痰からの日和見病原菌の検出状況」  
山本満寿美、原田悦子、吉本静雄、狩山玲子、公文裕巳

## G. 知的財産権の出願・登録状況

### 特許

発明の名称: 細胞観察用デバイス及び細胞観察方法  
出願人: 岡山大学、岡山県  
発明者: 金原和秀、公文裕巳、狩山玲子、妹尾典久、高野和潔  
出願日: 平成 21 年 3 月 10 日  
出願番号: 特願 2009-056598  
公開日: 平成 22 年 9 月 24 日  
公開番号: 特開 2010-207143  
登録日: 平成 23 年 2 月 4 日  
特許証: 特許第 4674337 号

## 分担研究報告書

### 病院歯科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 の検討

分担研究者 高柴 正悟  
岡山大学大学院・教授

研究要旨：医学の進歩によって、「易感染状態」として認識される高齢者や臓器移植患者などが、病院歯科において急増している。病院歯科においては、このような多様化した患者への対応方法が特に必要となる。確立した対応方法は、一般歯科医療へ応用させることによって、歯科医療における院内感染防止のシステムを普及させることになる。

これまでは、飛散した口腔細菌の検出方法を確立することと飛散した細菌の種類や飛散の程度を調べてきた。特に院内感染時に問題となる多剤耐性菌を検出して、歯科介入によって耐性菌が検出されにくくなることなどを報告してきた。

今回は、易感染状態の患者では非常在細菌が増加し、こうした患者に対する口腔感染対策を行うことが、院内感染を受けやすい状態になる口腔粘膜の炎症を抑制することを示した。

#### A. 研究目的

歯科治療時の院内感染を防止するために種々の対策や教育・研修が行われているが、易感染状態にある患者が多い病院歯科ではスタンダードプレコーションが日常的に行われている。そして、多剤耐性菌を保有したり、感染を受けやすい状態になっていたりする患者が増加している。このような状況下での歯科的介入の効果を評価して、介入方法を普及していることが医療の発展の中で必要である。

最近の医療技術の進歩によって、高齢者が増加したり移植治療を受ける患者が増加したりするようになった。歯科を含め医療の現場では、“易感染”状態にある患者数が増加しているのので、院内感染対策がますます必要になっている時代である。典型的なモデルとして病院歯科での対策方法を確立して、一般歯科での診療に応用することが有用である。

本研究では、これまでに我々が積み上げてきた効果的・効率的な口腔感染制御を一般歯科診

療時で実践可能な体制整備の一助になることを目的に、易感染状態の患者への介入の要点を、我々の介入方法の変化を比較してまとめた。

#### B. 研究方法

##### 1. 造血細胞移植患者での口腔内細菌叢の変化とそれをもたらす環境

岡山大学病院において同種造血細胞移植を行った 63 名の患者（男性 42 名、女性 21 名、平均年齢  $43.0 \pm 14.3$  歳）を対象に、通常の造血細胞移植の場合と reduced-intensity であるミニ移植の場合とで、口腔細菌叢の変化を、院内の臨床検査にて培養法による Coagulase-negative Staphylococcus (CoNS) の検出度で調べた。その際の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。その際の抗菌剤の使用程度と比較しながら、経時的変化もみた。

表 1 63 人の患者の疾患状況

Diseases	Type of HCT		Total
	Conventional	RIST	
Acute myelogenous leukemia	7	7	14
Acute lymphoblastic leukemia	7	3	10
Chronic myelogenous leukemia	1	8	9
Malignant lymphoma	12	7	19
Aplastic anemia	1		1
Myelodysplastic syndromes	6		6
Myelofibrosis		1	1
Adrenoleukodystrophy		1	1
Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria		1	1
Metastatic renal cell carcinoma		1	1
Total	34	29	63

2. 通常の造血幹細胞移植時での歯科介入方法の変化に伴う口腔粘膜状態の変化

岡山大学病院で 2003 年から 2006 年の 4 年間に  
 において通常の同種造血細胞移植を行った 53 名の  
 患者(男性 23 名, 女性 30 名, 平均年齢 34.3 ± 11.8  
 歳)を対象に, 口腔粘膜の状況の看護記録を調べ  
 た。

なお, 口腔管理の様式は, 2003 年と 2004 年は  
 歯科介入の試行段階で看護師による従来の含嗽  
 と清拭による口腔感染管理が主であり, 2005 年と  
 2006 年は徹底した歯科介入を行って看護師によ  
 る介入も変化した。

表 2 53 人の患者の疾患状況

Diseases	Year				Total
	2003	2004	2005	2006	
Acute myelogenous leukemia	5	4	3	4	16
Acute lymphoblastic leukemia	5	3	1	2	11
Chronic myelogenous leukemia	1	0	1	0	2
Malignant lymphoma	1	4	6	4	15
Aplastic anemia	1	0	1	0	2
Myelodysplastic syndromes	0	0	2	5	7
Total	13	11	14	15	53

これらの患者に対する移植素材や化学療法に  
 は, 大きな変化はなかった(移植素材のみ示す)。

表 3 53 人の患者への移植素材

Source	Year				Total
	2003	2004	2005	2006	
Related donors	7	4	2	6	19
Unrelated donors (without cord blood donors)	4	7	7	4	22
Unrelated cord blood donors	2	0	5	5	12
Total	13	11	14	15	53

なお, これらの臨床的観察(前向き, 後ろ向き)  
 は, 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科倫理委員

会の承認を得て実施した。

C. 研究結果

1. 口腔内細菌叢の変化とそれをもたらす環境

移植後の 1 週間と 2 週間で常在細菌叢の割合  
 は減少し, CoNS が増加した(図 1)。この傾向を  
 抗菌剤の使用(短期と長期)に合わせてみると,  
 明らかに抗菌剤の長期使用が関連していた(図  
 2)。なお, これらの傾向は, 移植の方法には関  
 連していないようであった(データ略)。

図 1 造血細胞移植後の細菌叢の変化

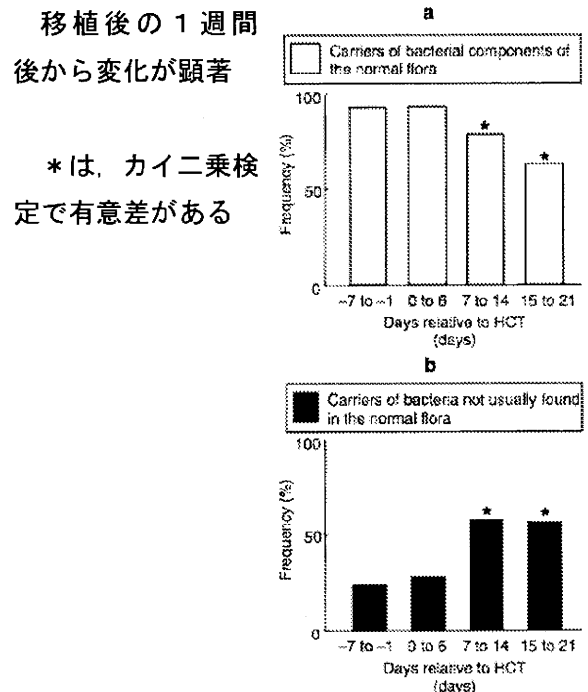
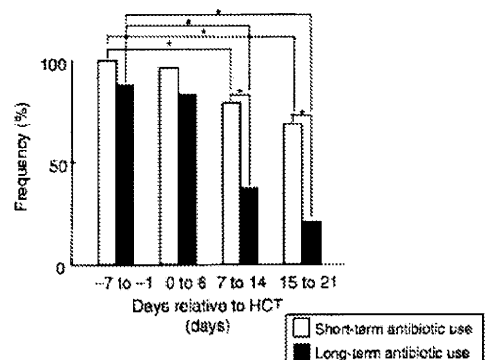
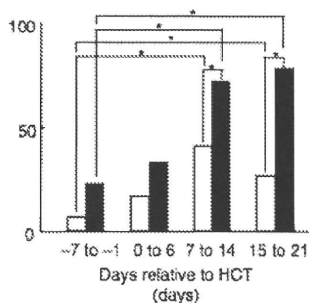


図 2 抗菌剤の使用と細菌種割合の変化

α-Streptococcus species



## Coagulase-negative staphylococci (CoNS)



### 2. 歯科介入方法の変化に伴う口腔粘膜状態の変化

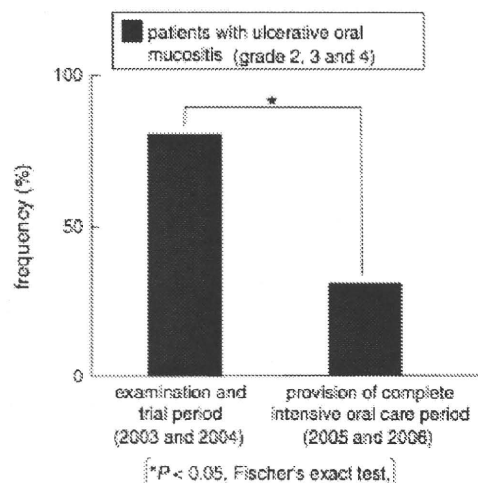
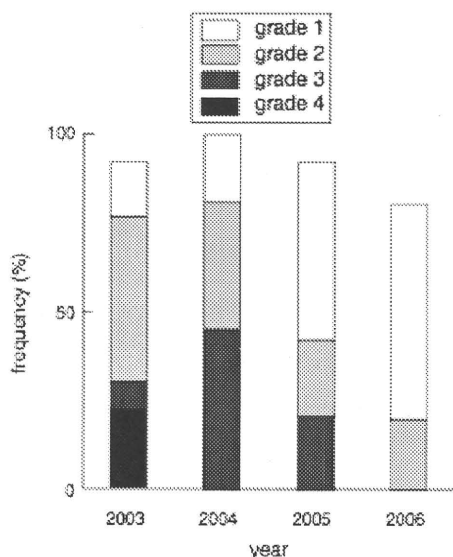
歯科の介入によって、口腔粘膜の状況は経年的に変化した。Grade 3 & 4 は消失していった (図 3)。ただし、統計学的には有意な差とならなかったため、Grade 2-4 のものを一群として経時的に頻度の変化をみると、2006 年にはこの一群は有意差を持って減少していた (データ略)。さらに、歯科の介入程度が大きく変化した 2004 年と 2005 年を境目にした 2 年間毎で比較すると、Grade 2-4 のものは激減していることが分かった (図 4)。

なお、Grade の分類は、National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events (NCI-CTCAE) version 3.0 に従った。

図 3 口腔内の潰瘍形成状況の経年的変化

上段は、Grade 毎の経年変化

下段は、Grade 2-4 のものを一群として 2004 年と 2005 年を境目にした 2 年間毎で比較した変化



### D. 考察

高度医療の発展と高齢者が増加する日本社会においては、がん治療や臓器移植治療時、さらには介護医療や訪問診療現場で、歯科医療の重要性和需要が高まっている。そのため、日常から院内感染を意識した歯科診療が行われなくてはならない。スタンダードプレコーションを確実に行っていけば、通常の診療時では十分であるが、このような患者ではさらなる注意が必要である。

これまでの我々の研究から、口腔細菌や口腔に感染する多剤耐性菌の検出方法を鋭敏にかつ簡便にしてきた。これをチェックに用いながら、易感染状態の患者へ歯科臨床を展開してきている。今回は、その成果をまとめて、易感染状態の患者のうち特に白血病患者への造血細胞移植時の対応策から学んだことを整理した。

造血細胞移植を行う前には、自己の造血細胞を抑制するために免疫抑制が強くなってしまう。そのために、口腔内では通常の細菌叢が破壊されて、病原性を有する細菌群 (今回は CoNS を指標とした) が優勢になってくる。免疫抑制状態には細菌感染によって、移植した造血幹細胞が生着するところには薬剤と急性の拒絶反応のために口腔粘膜は上皮のバリアが破綻してしまう。そのために、口腔粘膜の障害部分からの細菌 (それも多剤耐性菌) の感染が起こり、致命的な状況をも作りかねない事態となる。

ここへ、歯科介入を行うことによって、口腔細菌叢の正常性を保持すること、口腔粘膜の



障害を緩和して、口腔由来の細菌感染症を抑制することが、造血細胞移植の際に強く望まれている。まさに、医科・歯科・薬科・保健（看護）の集約的連携が必要となるのである。

このような社会情勢下において、歯科医療従事者はどのように対応すべきか、を常に考えてきた（岡山大学病院において以前の医・歯の2病院時代から12年間に及ぶ）。それは、IgG抗体価と16S rRNA遺伝子の検出による口腔細菌の感染量の把握から始まり、特異DNAの検出による多剤耐性菌の感染量の把握へと発展した。こうした状況下で、短期間の内に口腔内の感染源を除去する診療体制を構築していった。

一方で、歯科衛生士の大学院生による研究を通して、口腔内の乾燥緩和と粘膜保護を看護師との職種間連携によって開始した。さらに、この際に使用する口腔保湿剤に静菌的な作用があることも確認できた。これが高じて、大学院修了後の本歯科衛生士を本院の腫瘍センター専属で雇用することになり、一層の多職種間連携によるがん患者の口腔感染管理を行うことが可能となった。

さらに、易感染状態となりやすい周術期の患者を広く受け入れて、口腔感染管理のみならずに歯科的介入を行う診療体制をも構築したのである。まさに、医歯薬保の連携で医療を実施して、院内感染を広範囲に抑制する診療が行うことができるようになった。

このような状況では、歯科医療従事者は、歯科診療室（歯科医院）内の院内感染対策は、スタンダードプレコーションとして確実に実施することが必須となる。この上で、病院歯科としての院内感染対策を、口腔が関連する部分に関して、歯科医療従事者が担うことが責務である。

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

病院歯科における院内感染防止システムとして、以下の3点を結論とする。

1. 各種の検査を組み合わせることによって、感染を把握することが必要；ただし、感染の有無や量のみではなく、細菌叢のバランスへの配慮が必要
2. 多職種間での連携による院内感染対策を実施することが大切；そのための体制作りは重要
3. 訓練された歯科衛生士の適正配置が口腔が関係する院内感染には有効；医療経済的な検討は今後が必要

## F. 健康被害情報

特に記載事項なし。

## G. 研究発表：論文発表

1. Sugi N, Naruishi K, Kudo C, Hisaeda-Kako A, Kono T, Maeda H, Takashiba S. Prognosis of periodontitis recurrence after intensive periodontal treatment using examination of serum IgG antibody titer against periodontal bacteria. *J Clin Lab Anal.* 2011;25(1):25-32. doi: 10.1002/jcla.20381. PubMed PMID: 21254239.
2. 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 Apr;50(4):386-92. Epub 2010 Jan 22. PubMed PMID: 20149082.
3. Soga Y, Sugiura Y, Takahashi K, Nishimoto H, Maeda Y, Tanimoto M, Takashiba S. Progress of oral care and reduction of oral mucositis--a pilot study in a hematopoietic stem cell transplantation ward. *Support Care Cancer.* 2010 Feb;19(2):303-7. Epub 2010 Sep 15. PubMed PMID: 20842384.
4. Soga Y, Maeda Y, Ishimaru F, Tanimoto M, Maeda H, Nishimura F, Takashiba S. Bacterial substitution of coagulase-negative staphylococci for streptococci on the oral mucosa after hematopoietic cell transplantation. *Support Care*

5. 金中章江, 岩田宏隆, 大谷久美, 森本祥代, 前田知子, 井本有香, 塩見千尋, 長島義之, 高柴正悟. 要介護高齢者に対するのチームアプローチ 口腔機能の向上から栄養状態の改善を目指して. 感染防止(1340-9921)20 巻

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－H22－医療－一般－026)

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

院内感染防止システム普及のための細菌学的検査指標の標準化の検討  
－ATPふき取り検査の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、 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 口腔微生物学分野  
渡辺朱理、 埼玉県立大学健康開発学科 口腔保健科学専攻

#### 研究要旨

歯科診療においては常に患者の唾液や血液や病巣切片などが周囲にミストとなって飛散している。患者に安全・安心で良質な医療を提供するためには、院内感染防止対策として、歯科医療環境の適切な衛生管理が求められる。そのために歯科医療環境の清浄度を科学的に測定して得られる指標や基準やさらにはその標準化が院内感染防止対策として重要である。

そこで、今年度は、食品衛生検査や衛生管理モニタリング試験に用いられている「ATPふき取り検査」をデンタルユニット周囲の清浄度調査に適用して実施した。

さらに、近年の地球温暖化や毎夏の猛暑などの影響で、アメリカニューヨークではここ数年にわたり家屋内での南京虫 (bedbugs) の大量発生が問題となっている。そこで、日本の家屋内における代表的な病害微小昆虫であるタバコシバンムシ (*Lasioderma serricirne*) の歯科医療環境における生息状況についても調査を実施した。

これらの歯科医療環境モニタリング調査を歯科医療環境整備や院内感染対策に役立て、患者および歯科医療従事者により安全で安心な歯科医療を提供していきたい。

#### A. 研究目的

2007年4月の医療法の一部改正には、歯科診療所にも「院内感染制御体制」の整備が盛り込まれ、また昨今のインフルエンザの流行もあって、歯科医療における院内感染防止対策への関心が高まっている。

歯科診療では患者の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ので、

歯科医療環境を清浄に保つことが、院内感染対策へのまず第一歩であると考えられる。

そこで、今年度はまず、「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、食品衛生検査や衛生管理モニタリング試験法に用いられている「ATPふき取り検査」をデンタルユニット周囲の清浄度調査に適用して実施した。

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て生じる生物発光(バイオルミネッセンス)量を測定し、それを基に清浄度を数値化するものである。

さらに、国内でも発生が懸念されている病害微小昆虫については、まず、タバコシバンムシ(*Lasioderma serricirne*)の歯科診療室における生息実態調査を実施した。

これらの歯科医療環境調査を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: 市中で開業している一般歯科医院におけるデンタルユニット(6台; チェア上部および照明灯)

2. 「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; 100cm<sup>2</sup>)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・消毒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。

3. 培養検査: 院内感染対策で重要視される細菌のひとつであるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)の有無については培養検査で調べた。調査対象表面をクリーンスタンプ「ニッスイ」MSO寒天(MRSA選択培

地)に塗布し、35度で48時間培養した。

4. 歯科診療室におけるタバコシバンムシ生息調査: 2つの歯科診療室の10ヶ所(受付、デンタルチェア、洗い場、感染性廃棄物置き場、一般ゴミ置き場など)にタバコシバンムシトラップ(NEW SERRICO:富士フレイバー社製)を仕掛け、2週間ごとにトラップを回収して、1ヶ月間(平成22年9月、1-2週および3-4週)にわたって、タバコシバンムシの生息調査を実施した。

## C. 研究結果

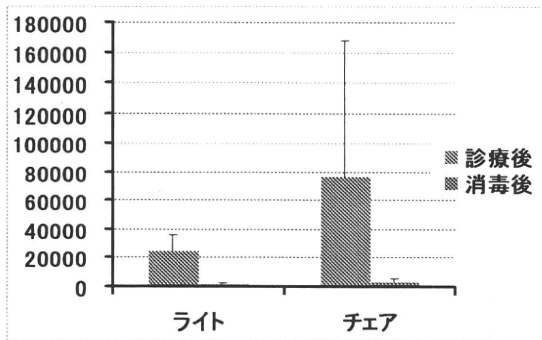
### 1. 歯科診療室デンタルユニット周囲の「ATPふき取り検査」:

「ATPふきとり検査」で午前中の診療終了後のデンタルユニット周囲(8台)を調べた。患者の口腔に近いデンタルチェア上部では最高248,418RLU(平均76,404RLU)の値を示した。アルコールウエットティッシュで清拭・消毒後にはその値は7,900RLU(平均3,636RLU)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43,452RLU(平均24,400RLU)の値を示した。同様にアルコールウエットティッシュで清拭・消毒後にはその値は2,704RLU(平均1,575RLU)まで減少した。最も高いRLU値を示したチェアと照明灯では、「ATPふき取り検査」直前まで、患者の抜歯処置をしており、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明らかとなった。

一方、最も低いRLU値を示したチェアと照明灯は歯科衛生士専用で主にブラッシング指導などに使用し、観血処置をしていないものであった。

RLU デンタルユニット周囲ATPふき取り

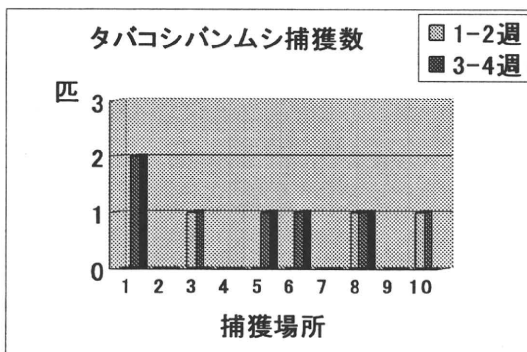
## 検査



また、今回調査したデンタルチェア上部や照明灯のいずれの箇所からは MRSA は検出されなかった。

## 2. 歯科診療室におけるタバコシバンムシ生息調査：

調査した最初の2週間では、10ヶ所のうち3ヶ所でそれぞれ1匹ずつ合計3匹を捕獲した。また、次の2週間では4ヶ所で計5匹を捕獲した。



## D. 考察

「ATP ふき取り検査」では ATP が含まれる生菌/死菌に加えてヒト手指や体液（唾液、血液など）由来の汚れも反映するので、食品衛生管理における清浄度の指標として評価されている。すなわち、調理場の管理基準値（10cm 四方）として、調理台は 200 RLU、まな板および冷蔵庫内部は 500 RLU などの値が推奨されている。また海外の文献によ

れば医科での入院病室や床の清浄度については 10cm 四方の「ATP ふき取り検査」の RLU 値として 500 あるいは 250 RLU が院内感染防止対策指標として提唱されている。

これらの値と比較すると、今回検査したデンタルユニット周囲の RLU 値は高い値を示し、歯科医療環境の清浄度が求められる。診療室の清掃やデンタルユニットの清拭・消毒後の目視だけの清浄度確認だけではやはり不十分で、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は、今後、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。

そこで今後、食品衛生管理や医科領域での「ATPふき取り検査」の現状について比較、検討して、これを歯科領域においても院内感染防止対策のための指標のひとつとして標準化を計りたい。

また、近年の地球温暖化の影響で、毎年の猛暑が続き、国内でも発生が懸念されている病害微小昆虫について、今回は、タバコシバンムシの歯科診療室における生息調査を実施した。歯科診療室におけるタバコシバンムシ生息調査では、2つの歯科診療室の10ヶ所から1ヶ月間で合計8匹を捕獲した。タバコシバンムシの一般住宅における生息状況調査については、東京都内および近県の一戸建住宅16軒、集合住宅17軒を選び、8月の1カ月間、台所、洋室、和室に1個ずつ設置して調査した資料がある。結果は、タバコシバンムシは33軒すべてで捕獲され、1軒あたりの捕獲数は最高924匹、最低8匹（平均212匹）であった。これらと比較すると、今回調査した歯科診療室でのタバコシバンムシの発生や生息状況は少ないものであった。

なお、タバコシバンムシはその体表面や

内部からMRSAをはじめとする病原細菌や病原真菌 *Aspergillus* などが分離される事例も報告され、病害微小昆虫としても着目されている。歯科診療室でのタバコシバンムシ生息調査も引き続き実施してゆきたい。

#### E. 結論

2007年4月から施行された改正医療法では、歯科診療所にも院内感染対策の整備が求められている。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モニタリング調査および歯科診療室におけるタバコシバンムシなどの病害微小昆虫の生息調査などは院内感染対策のひとつとして今後、有用であると考えられる。

#### F. 健康危険情報

該当なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) 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.* 25(2):112-22, 2010.
- 2) 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.* 50(4):386-92, 2010.
- 3) 佐藤法仁, 渡辺朱理, 苔口 進: 医療従事者の身だしなみに関する研究—医師・歯科医師の身だしなみに対する不快

度調査. 日本医事新報, 第4498巻, 95-98, 2010.

- 4) 山部こころ, 苔口 進, 前田博史: メタン生成古細菌は歯周病の病原因子? *化学と生物*, 第48巻, 第7号, 463-470, 2010.
- 5) 苔口 進, 山部こころ, 前田博史: メタン産生古細菌 *Methanobrevibacter* の口腔疾患へのかかわり. *日本臨床腸内微生物学会誌*, 第12巻, 第1号, 17-25, 2010.
- 6) 渡辺朱理, 佐藤法仁, 苔口 進: 歯科衛生士学校生における市中感染型メチリン耐性ブドウ球菌の保菌調査を通じての感染予防対策教育の向上. *日本歯科衛生学会雑誌*, 第5巻, 第2号, 69-76, 2011.

#### 2. 学会発表

A. Watanabe, N. Satoh, N. Tamaki, and S. Kokeyuchi: Evaluation of Contamination on Dental PPE using an ATP-bioluminescence Method. 89th General Session & Exhibition of the IADR, 40th Annual Meeting of the AADR, 35th Annual Meeting of the CADR, (San Diego, Calif., USA) March 16-19, 2011.

佐藤法仁: 歯科医療における歯科医療従事者の感染予防対策と行動について. 社団法人岡山県歯科衛生士会倉敷支部研修会 (倉敷市, 暮らし健康福祉プラザ) 平成22年5月.

佐藤法仁: 歯科医療における歯科医療従事者の感染予防対策と行動について. 社団法人岡山県歯科衛生士会平成22年度第1回学

術講習会（岡山市，岡山県生涯学習センター）

平成22年6月.

渡辺朱理，佐藤法仁，苔口 進： ATP測定法を利用した歯科衛生士着用のサージカルマスクの汚染度調査. 第5回日本歯科衛生学会学術大会（千葉市美浜区，OVTA 財団法人海外職業訓練協会 国際能力開発支援センター）

平成22年9月.

佐藤法仁，渡辺朱理，苔口 進： ATP測定法を利用した歯科医療従事者着用の歯科用ゴーグルと個人使用眼鏡の汚染度比較調査. 第5回日本歯科衛生学会学術大会（千葉市美浜区，OVTA 財団法人海外職業訓練協会 国際能力開発支援センター）

平成22年9月.

渡辺朱理，佐藤法仁，苔口 進： 歯科臨床における感染予防対策の認識と課題. 第1回日本歯科衛生教育学会歯科衛生士専任教員秋期学術研修会（京都市，都ホテル）

平成22年12月.

渡辺朱理，佐藤法仁，苔口 進： 歯科衛生士学校生における市中感染型メチシリン耐性ブドウ球菌の保菌調査 -感染予防対策教育に向けて-. 第26回日本環境感染学会総会（横浜市，パシフィコ横浜）

平成23年2月.

佐藤法仁，渡辺朱理，苔口 進： ATP測定法を用いたブラッシング時の眼部への飛散汚染度調査. 第26回日本環境感染学会総会（横浜市，パシフィコ横浜）

平成23年2月.

佐藤法仁，渡辺朱理，苔口 進： 無意識行動における術前手洗い後の不潔域への接触と対策の模索. 第26回日本環境感染学会総会.（横浜市，パシフィコ横浜）

平成23年2月.

H. 知的財産件の出願・登録状況  
該当なし



### III. 研究成果の刊行に関する一覧表



研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	頁	出版年
Moriyuki Nakamura, Taisuke Fujibayashi, Akira Tominaga, Norifumi Satoh, Taketo Kawarai, Osamu Shinozuka, Haruo Watanabe, Tsuneyoshi Yamazaki, and <b><u>Hidenobu Senpuku.</u></b>	Hinokitiol inhibits <i>Candida albicans</i> adherence to oral epithelial cells.	Journal of Oral Biosciences	52	42-50	2010
Tadayoshi Arakawa, Takeshi Fujimaru, Tsutomu Ishizaki, Hiroaki Takeuchi, Masato Kageyama, Takuji Ikemi, Nobuhiro Hanada, Haruo Watanabe, and <b><u>Hidenobu Senpuku.</u></b>	Unique functions of hydroxyapatite to adherence of mutans streptococci.	Quintessence International.	41	e11-9	2010
Yoshihide Nishiyama, Erika Inaba, Hiroshi Uematsu and <b><u>Hidenobu Senpuku.</u></b>	Effects of mucosal care on oral pathogens in professional oral hygiene to the elderly.	Archives of Gerontology & Geriatrics.	51	e139-e143	2010

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	頁	出版年
<b><u>Hideobu Senpuku</u></b> Hideo Miyazaki, Saori Yoneda, Akihiro Yoshihara, and Akio Tada.	A quick statistically accurate diagnosis for caries risk in the elderly.	Clinical Laboratory	56	505-512	2010
Kentaro Okuda, Nobuhiro Hanada, Yoshie Usui, Hiroaki Takeuchi, Hidehiko Koba, Ryoma Nakao, Haruo Watanabe, and <b><u>Hideobu Senpuku</u></b>	Inhibition of <i>Streptococcus mutans</i> adherence and biofilm formation using analogues of the SspB peptide.	Archives of Oral Biology	55	754-762	2010
<b>泉福英信</b>	多剤性耐性菌アシネトバクター & NDM-1 の歯科医療における感染防止対策	日本歯科評論	11	82-86	2010
<b>狩山玲子、公文裕巳</b>	バイオフィーム形成とクオラムセンシング 臨床医学編 2. 泌尿器感染症とバイオフィーム.	化学療法の領域	26	71-78	2010
<b>狩山玲子、金原和秀、高野和潔、妹尾典久、大森啓士、光畑律子、桐田泰三、公文裕巳</b>	新規マイクロデバイスに形成された緑膿菌性バイオフィームの共焦点走査型顕微鏡観察	Bacterial Adherence & Biofilm		印刷中	
Sugi N, Naruishi K, Kudo C, Hisaeda-Kako A, Kono T, Maeda H, <b><u>Takashiba S.</u></b>	Prognosis of periodontitis recurrence after intensive periodontal treatment using examination of serum IgG antibody titer against periodontal bacteria.	J Clin Lab Anal	25	25-32	2011

Koide Y, Maeda H, Yamabe K, Naruishi K, Yamamoto T, Kokeguchi S, <b><u>Takashiba S.</u></b>	Rapid detection of <i>mecA</i> and <i>spa</i> by the loop-mediated isothermal amplification (LAMP) method.	Lett Appl Microbiol	50	386-392	2010
Soga Y, Sugiura Y, Takahashi K, Nishimoto H, Maeda Y, Tanimoto M, <b><u>Takashiba S.</u></b>	Progress of oral care and reduction of oral mucositis-a pilot study in a hematopoietic stem cell transplantation ward.	Support Care Cancer	19	303-307	2011
Soga Y, Maeda Y, Ishimaru F, Tanimoto M, Maeda H, Nishimura F, <b><u>Takashiba S</u></b>	Bacterial substitution of coagulase-negative staphylococci for streptococci on the oral mucosa after hematopoietic cell transplantation.	Support Care Cancer		印刷中	
金中章江, 岩田宏 隆, 大谷久美, 森本 祥代, 前田知子, 井 本有香, 塩見千尋, 長島義之, <b><u>高柴正悟</u></b>	介護高齢者に対してのチームアプローチ 口腔機能の向上から栄養状態の改善を目指して	感染防止	20	14-22	2010
Yamabe K, Maeda H, <b><u>Kokeguchi S,</u></b> Soga Y, Meguro M, Naruishi K, Asakawa S, <b><u>Takashiba S</u></b>	Antigenic group II chaperonin in <i>Methanobrevibacter oralis</i> may cross-react with human chaperonin CCT.	Mol Oral Microbiol.	25	112-122	2010
佐藤法仁, 渡辺朱理, <b><u>若口 進</u></b>	医療従事者の身だしなみに関する研究-医師・歯科医師の身だしなみに対する不快感調査	日本医事新報	4498	95-98	2010

山部こころ、 <u>苔口進</u> 、前田博史	メタン生成古細菌は歯周病の病原因子？	化学と生物	48	463-470	2010
<u>苔口進</u> 、山部こころ、前田博史	メタン産生古細菌 <i>Methanobrevibacter</i> の口腔疾患への関わり	日本臨床腸内微生物学会誌	12	17-25	2010
渡辺朱理、佐藤法仁、 <u>苔口進</u>	歯科衛生士学校生における市中感染型メチシリン耐性ブドウ球菌の保菌調査を通しての感染予防対策教育の向上	日本歯科衛生学会雑誌	5	69-76	2011