

201129024A

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

平成23年度 総括・分担研究報告書

研究代表者

泉 福 英 信

平成24 (2012) 年 3 月

厚生労働科学研究費補助金

地域医療基盤開発推進研究事業

# 歯科医療における院内感染防止システム 普及のための評価指標の 標準化とその応用について

平成23年度 総括・分担研究報告書

研究代表者

泉 福 英 信

平成24（2012）年3月

## 目 次

I. 総括研究報告	
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	----- 1
泉福英信	
II. 分担研究報告	
1. 一般開業歯科医療における院内感染対策の評価指標の標準化と その歯科医師への導入プログラムの作成	-----17
泉福英信、小森康雄	
2. 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	-45
小澤寿子、長谷川（中野）雅子、高尾亞由子	
3. 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	--53
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	
公文裕巳、狩山玲子、山本満寿美、光畑律子	
4. 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	-----87
(歯科患者の多様性に対する感染対策)	
高柴正悟	
5. 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	-----91
-デンタルユニット給水系における薬剤耐性菌の生息状況調査-	
荅口 進	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----95
IV. 研究成果の刊行物・別刷	-----97

# I. 総括研究報告

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

泉福英信

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）  
総括研究報告書

「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」

研究代表者 泉福英信（国立感染症研究所・細菌第一部・室長）

研究要旨： 様々な全身感染症の発症が絶えない昨今、唾液や血液が飛び散る可能性の高い歯科医療において、感染症を有する患者に対してどのような指標のもと、歯科医療を提供していけばよいのか明確な基準が示されていない。そこで本研究は、歯科医療における院内感染対策の評価指標の開発しそれを応用していくことを目的として、平成22年度から引き続き平成23年度は5つの研究班を組織して研究を行った。

「一般開業歯科医療における院内感染対策の評価指標の標準化とその歯科医師への導入プログラムの作成」では、平成23年度は平成22年度とはことなる某C県における3年間の院内感染対策の意識、知識、行動の変化の検討を行った。その結果、3年間の歯科医師会、行政などの取り組みにより、全体的な院内感染対策率の向上が認められた。これは、若い歯科医師を中心に各年代とも上昇傾向が認められた。しかし、実際のHIV感染者の歯科治療は若い歯科医師に多く、患者ごとのタービンヘッドの交換や口外バキュームの設置、スタンダードプリコーションの理解を今後各年代にも普及させることが重要と示唆された。院内感染対策11項目の中で、患者ごとのタービンヘッドの交換、スタッフの肝炎ワクチン接種や口外バキュームの設置を院内感染対策のランクアップするための鍵として、院内感染対策の普及活動に有用であることが明らかとなった。

「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」では、過酸化水素水を使用した新しい水回路クリーンシステム搭載の歯科用ユニットと微酸性電解水の生成装置を搭載し、DUWLに微酸性電解水を流入して診療に使用する別の試作開発した歯科用ユニットの有効性について評価した。2種の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、新クリーンシステムはDUWLの水の汚染対策として有効であることが示唆された。

「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」では、地域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と長期留置歴のある患者を対象として、口腔（歯垢・粘膜）と吸引痰からの日和見菌の検出状況を調査した。結果、口腔は痰と同様に感染源として認識し、口腔ケアは気管吸引操作と同等の厳格な感染管理下にて実施する必要があると考えられた。

「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」では、以下の2点を結果として得ることができた。易感染性状態になる患者は、周術期において薬剤耐性遺伝子を保有する細菌に高頻度で不顕性に感染していた。バンコマイシン耐性菌の検出に効果的なLAMP法を考案した。

「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」では、デンタルユニット給水系における細菌の生息状況、特に今回は、薬剤耐性菌に焦点を当てて培養法によって調査した。休日明けの日常歯科診療開始時には、CDCが推奨する従属栄養細菌数500CFU/mL以下、日本の水道水の水質管理基準として提唱される従属栄養細菌数2,000CFU/mL以下の基準には、いずれも達していなかった。5年前に実施したデンタルユニット給水系の水質調査と比べて、今回検出された従属栄養細菌数は約20倍に増加していた。歯科診療室デンタルユニット内の細菌汚染を防止するためにも、日々の診療開始前の十分な通水や定期的な細菌検査が重要であることが明らかとなった。

## 分担研究者

公文裕己 岡山大学大学院教授  
狩山玲子 岡山大学大学院助教  
小澤淑子 鶴見大学歯学部講師  
高柴正悟 岡山大学大学院教授  
苔口 進 岡山大学大学院准教授

## 研究協力者

(泉福班)

小森康雄 東京医科大学非常勤講師  
小澤淑子 鶴見大学歯学部講師  
井上一彦 国立保健医療科学院口腔外保健部・協力研究員

(公文・狩山班)

山本満寿美 福山平成大学看護学部助教  
光畑律子 岡山大学大学院技術補佐員

(小澤班)

長谷川(中野)雅子 鶴見大学歯学部助教  
高尾亜由子 鶴見大学歯学部助教

(高柴班)

谷本一郎 岡山大学大学院助教  
曾我賢彦 岡山大学大学院助教  
前田博史 岡山大学大学院准教授  
苔口進 岡山大学大学院准教授

(苔口班)

狩山玲子 岡山大学大学院助教  
佐藤法仁 岡山大学大学院  
渡辺朱理 岡山大学大学院

## A. 研究目的

「一般開業歯科医療における院内感染対策の評価指標の標準化とその歯科医師への導

## 入プログラムの作成」

21年度に起こった新型インフルエンザパンデミックは、歯科医療においても感染対策の難しさおよびその重要性を改めて認識させた。歯科医療は、治療の際の患者との近接、唾液血液の飛び散りなどから病原体に曝されるリスクが高いためスタンダードプレコーションを徹底して行う必要がある。しかし平成16~18年度厚生労働科学研究補助金事業「歯科医療における院内感染防止システムの開発」(代表者：泉福英信)の成果では、スタンダードプレコーションの理解率は一般開業歯科医師で10%前後と低く、多くの歯科医師が万全の院内感染防止システムの体制での歯科医療を行っていないことが明らかとなった。新型インフルエンザを含めSARS, HIV, HBV, HCV等の感染症の問題は後を絶たず、また近年では、多剤耐性アシネトバクターによる院内感染の問題も出て、全ての歯科医師に対応できるスタンダードプレコーションを導入させることは急務である。我々の研究活動として、学会や雑誌での発表、研修、実習の開催、シンポジウム等を行ってきた結果、平成19年には医療法の一部が改正され、歯科診療所における院内感染制御体制の整備が求められるようになった。また地方自治体、歯科医師会、保健所、学会等でも研修会が開催されるようになった。院内感染対策の導入に関して、地域、年齢、収入格差に左右され、その中でスタンダードプレコーションの理解率は平成20年度までの2年間で3.1%程度の上昇に止まった。しかし、平成22年度は、平成20年度から11.4%上昇し、取り

組みが功を奏し始めてきた。しかし、知識の上昇に比べその行動が伴っていないことも浮き彫りになり、行動の伴い易い指標を作成しそれを普及するシステムが必要である。本研究班の成果で挙げた指標 11 項目、歯科用チェアユニット内給水の汚染除去システム、歯科用器具やユニット周囲における微生物汚染検査法などを検討し、ハードおよびソフト面で整備された院内感染防止システムを構築し、いかにそれらを応用して全歯科医師にどのように普及させていくかが課題である。本研究は研究期間内でその課題を達成することを目的とする。本研究では、院内感染対策のハードルに沿って、4つのランク付けを行い、このランク付けの評価も併せて検討を行うことも目的とする。

「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」

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

最も速いが外側に行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う問題点がある。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 (CDC) 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  $H_2O_2$  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、引き続き評価した。また、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 DUWL から分離された微生物を同定し、その浮遊菌およびバイオフィームに対して、今回は微酸性電解水の殺菌効果を検討した。

「バイオフィー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」

① 細菌バイオフィー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ームは医学・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、バイオフィーム感染症の予防と制御のための新規治療法・医療材料・抗バイオフィー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、バイオフィー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い、平成22年度に特許を取得した(特許第4674337号)。本年度は、最新型マイクロデバイス(薬剤混合タイプ)の有用性について、フローセルシステムにおいてバイオフィーム形成阻害候補化合物の評価を行った。

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。本年度は地域中規模病院の障害者病棟の入院患者を対象として、尿からの検出菌調査を後方視的に行い、口腔(歯垢・粘膜)と吸引痰からの日和見病原菌の検出状況との関連性について考察を行った。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。

「病院歯科における院内感染防止システム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ので、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開業歯科医院での診療に応用することが急務である。

本研究では、これまでに我々が積み上げてきた効果的・効率的な薬剤耐性菌の検出システムを応用することと、その結果から

専門的口腔衛生管理を改変するなどの配慮をするきっかけとなるように、造血幹細胞移植時の患者の口腔内にメチシリン耐性遺伝子(*mecA*)をもつ細菌がどの程度棲息するかを調べた。

一方で、メチシリン耐性だけではなくバンコマイシン耐性細菌の感染についても迅速に調べることができるよう、バンコマイシン耐性遺伝子の迅速・高感度検出法を、*in vitro*モデルで検討した。

「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」

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た。一方、2008年から全国の病院において多剤耐性緑膿菌(MDRP)や多剤耐性アシネトバクター(MDRA)が原因の院内感染によって入院患者の死亡事例が報告されて大きな社会問題となった。歯科診療で使用する水はデンタルユニット配管内で滞留しやすく、バイオフィーム形成による細菌汚染が懸念されている。緑膿菌やアシネトバクターさらには、レジオネラ菌は通常、医療環境中において、水系に分布・生息する病原細菌として院内感染対策において十分な注意が必要な細菌群である。

そこで、某歯科診療室の10台のデンタルユニット(スリーウェイシリンジ)における一般細菌や従属栄養細菌に加えて、院内感染の問題となる薬剤耐性菌やレジオネラ菌の生息状況について細菌培養法を用いて調査を行った。歯科医療環境調査、特にデンタルユニット給水系の細菌生息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

「一般開業歯科医療における院内感染対策の評価指標の標準化とその歯科医師への導入プログラムの作成」

20年に行った東海地区某C県に所属する3319歯科医療機関を対象にアンケート調査（回答数1925、回答率58.1%）と平成23年に行った同じ某C県に所属する3330歯科医療機関を対象にアンケート調査（回答数2351、回答率70.8%）を利用して、それぞれの質問項目における変動や質問間の関連性について検討を行った。平成19年度の医療法や平成20年度診療報酬の改正に対する意識、知識おとび行動との関連性についても併せて検討を行った。また、平成19～21年度の検討で評価指標の候補をして挙げた11項目について、どのように導入していけばよいか検討を行った。

「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」

1)  $H_2O_2$ 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）の評価

毎日の診療後に備え付けのタンクに入った $H_2O_2$ 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、 $H_2O_2$ 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。 $H_2O_2$ 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。

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℃、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℃、48時間の培養を行った。

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™イムシアⅢ型、（株）モリタ社）の評価

生成供給装置から微酸性電解水（有効塩素濃度10～30ppm、pH6.3～6.8）をDUWL（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。DUWLには、水道水対応の場合と異なる化学的変化の生じにくい部材を使用している。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℃、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℃、48時間の培養を行った。

### 3) DUWLより分離された優勢菌種の同定

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DUWLより分離された優勢菌種の発育コロニーに対して、PCR法により16S rDNAの塩基配列解析を行った。

### 4) DUWLからの分離菌に対する微酸性電解水の殺菌効果

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の水道水使用のハイスピードハンドピース（H-2）排出水より分離された優勢菌 $10^7$  CFU/ml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℃、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℃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0.5%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（OD<sub>620nm</sub>）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）の経時変化としてマイクロプレートリーダー（CYTOFLUOR II, PerSeptive Biosystems）にて測定した。

### 5) 金属溶出試験

2011年1月と12月に水道法に定められた方法で、鉛、六価クロム、亜鉛、銅についての金属溶出試験を日本食品分析センターに依頼して行なった。

「バイオフィー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」

① *Pseudomonas aeruginosa* OP14-210株およびGFP (green fluorescent protein)産生 OP14-210(pMF230)株を用いた。最新型マイクロデバイス（薬剤混合タイプ）に一夜培養の菌液を接種して、37℃、2時間放置したのち、人工尿を20 mL/hrで灌流させ、薬剤無添加と薬剤作用後のバイオフィームを共焦点レーザー走査型顕微鏡（CLSM: Zeiss LSM 510）にて観察した。GFP非産生株の場合は、蛍光染色キット（Live/Dead BacLight Bacterial Viability Kits: Molecular Probes）を用いてバイオフィーム内の生菌と死菌を染め分けた。

② 長期尿路カテーテル留置患者と長期留置歴のある患者27名を対象にした。平均年齢は76.6±15.1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（ADL）が著しく低下した患者であった。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。尿からの検出菌は後方視的に調査した。有

歯顎患者 16 名は歯垢、無歯顎患者 11 名は口腔粘膜を検体とし、採取には日和見感染菌検査キット(BML 社)を使用した。採取時期は口腔ケア実施後 4 時間以降とした。吸引痰は気管カニューレあるいは鼻腔経路で下咽頭から気道内の痰を吸引し、吸引した痰に滅菌スワブを浸漬させ検体とした。細菌の菌種同定と概算菌数の算定は BML 社に依頼した。口腔と吸引痰から分離された 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。

「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」

### 1. 造血細胞移植患者のメチシリン耐性遺伝子 (*mecA*) をもつ細菌への感染頻度

仮説としては、造血幹細胞移植患者は易感染性状態となるので、*mecA* を保有する細菌の感染頻度が高いとした。岡山大学病院において同種造血細胞移植を行う 37 名の患者(男性 20 名, 女性 17 名, 年齢中央値 55 歳, 年齢範囲 16~67 歳)を対象に、造血幹細胞移植前後での頬粘膜上の細菌叢に、メチシリン耐性をもたらす *mecA* を保有する細菌が感染しているかを調べた。本格的な調査の前段階であるので、対照者は大学病院の歯科医師 21 名(男性 15 名, 女性 6 名, 年齢中央値 30 歳, 年齢範囲 25~40 歳)とした。

今回は、実際の医療への展開を行うのではないので、迅速・高感度な検出方法よりも、確実に検出することに主眼を置き、我々のこれまでの研究成果(Koide Y, et al., Lett Appl Microbiol. 2010)において対照として用いた polymerase chain reaction (PCR)法を用いて、*mecA*陽性率を調べた。

## 2. バンコマイシン耐性遺伝子 (*vanA* と *vanB*) の迅速・高感度検出方法の確立

岡山大学内で保有しているバンコマイシン耐性腸球菌の臨床分離株 74 株と、20 株の対照を用いて、通常の PCR 法と loop-mediated isothermal amplification (LAMP) 法を、我々の以前の報告(Koide Y, et al., Lett Appl Microbiol. 2010)と同様に比較しながら、検出を試みた。

用いたプライマーは、以下のとおりである。

PCR 法 (Petrich *et al.*, 1999 による)

<i>vanA</i>	forward	:
5'-GCTGCGATATTCAAAGCTCA-3'		
<i>vanA</i>	reverse	:
5'-CAGTACAATGCGGCCGTTA-3'		
<i>vanB</i>	forward	:
5'-ATGGGAAGCCGATAGTCTC-3'		
<i>vanB</i>	reverse	:
5'-GTTACGCCAAAGGACGAAC-3'		

### LAMP 法

Target gene	Primer	Sequence
<i>vanA</i>	F3	5'-tggcagctacgtttacct-3'
	B3	5'-ctgatttgggtccacctcg-3'
	FIP	5'-cggcgtattgactttttcacacctgtttttgtaagcgg-3'
	BIP	5'-cggcaagacaatatgacagcaaaactgtttccaataaccgc-3'
	LB	5'-aattgagcagctgtttcgg-3'
<i>vanB</i>	F3	5'-ggaatgggaagccgacag-3'
	B3	5'-caagctcggagccttga-3'
	FIP	5'-acgccgtgtttcgtattcgtttctccccgcatactctc-3'
	BIP	5'-ctttcccgggtttgcatggcaaccacataggggataccaga-3'
	LB	5'-tgcgatacagggcgtgtt-3'

### 「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」

1. 検査対象：デンタルユニット給水系の水は、某歯科診療室のデンタルユニット(スリーウェイシリンジ) 10 台から、診療終了時から休日をはさんで 3 日半の休診後の診療開始前に採取した。

2. 培養検査：一般細菌の培養は、普通寒天平板培地で 37°C、4 日間培養し、従属栄養細菌の培養は、American Public Health Association (APHA) が推奨する給水系細菌検査用 R2A 培地で 25°C、7 日間培養した。さらに、腸内細菌群については MacConkey 寒天平板培地で、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) やバンコマイシン耐性腸球菌 (VRE) や MDRP や MDRA はそれぞれ、市販の選択培地を用いて培養した。レジオネラ菌については試料水を遠心沈殿で濃縮して、50°C、30 分間の加熱処理後、WY0 $\alpha$  培地を用いて、37°C、4~7 日間培養した。培養後それぞれの寒天平板培地に増殖したコロニー数を計測した。

3. 細菌種の同定：サンプルの DNA 抽出は InstaGene Matrix (Bio-Rad) を用いて調製した。細菌種の同定は 16S rDNA 塩基配列で行なった。すなわち、菌種の同定や分類に用いられる細菌 16S rDNA を PCR 法で増幅し、増幅 DNA 断片を TopoTA クローニングキット (Invitrogen) を用いてクローニングした。それぞれの塩基配列を決定後、細菌 DNA データベースと照合し、菌種を決定した。

### C. 研究結果・考察

「一般開業歯科医療における院内感染対策の評価指標の標準化とその歯科医師への導入プログラムの作成」

院内感染対策における意識は、平成 20 年から 23 年にかけて全体的に向上していることが明らかとなった。特に自分の歯科診療所で HIV 感染者の歯科治療を受け入れる意思のある歯科医療機関が 20 年度 414 人 (22.1%) から 747 人 (32.3%) 上昇していた

のが特筆すべきことであった。これには、スタンダードプリコーションの理解率の上昇、防護用メガネの着用、グローブの着用、患者ごとのハンドピースの交換などの多くの行動が影響しているようであった。この影響した項目の中に、19 年 4 月の医療法の改正が影響しているか 23 年度で検討すると、変わった医療機関は 12.2%、少し変わった医療機関は 37% で合わせて 49% の医療機関が影響したことを感じているようであった。平成 20 年の 4 月の診療報酬改定で外来診療環境加算が改定されて、口外バキュームを設置した人は 5.3% であった。大きな影響を及ぼすまでは行っていないことが考えられた。感染対策費用としては、患者一人あたり 100 円と回答する機関が多かった。これらを総合して、自分の診療所の感染対策の評価は、出来ていると感じている機関は 6.2% に止まり、まあまあ出来ている機関を合わせると 33.6% の医療機関がプラスの評価をしていることが明らかになった。自分の歯科診療所で HIV 感染者の歯科治療を受け入れる意志がある機関を 32.3% であることを考えると、ほぼ一致している結果となった。

今までの検討から、患者ごとのハンドピースの交換が院内感染対策の鍵になっていることが明らかとなっていたので、交換している機関と交換していない機関に分けて各項目の検討を行った。知識の中で、血液が混じった唾液を介して HIV はヒトからヒトへ感染すると思いますかという質問に対しての回答以外は意識、知識すべての項目で患者ごとのハンドピースの交換する医療機関が交換しない医療機関よりも上回っていた。特に、自分の歯科診療所で HIV 感染

者の歯科治療を受け入れる意志のある項目で 13.1%、スタンダードプリコーションおよびユニバーサルプリコーションは何かという質問項目で 18.2%の上昇が認められ、これらは院内感染対策の基本的な概念であるスタンダードプリコーションの理解と院内感染対策のハードルとしては比較的に高いハンドピースの交換と密接に関係していた。

これらの事実を踏まえ、20年から23年にかけて、院内感染対策の向上が見られたのはどの年代の歯科医師であるか明らかにする検討を行った。今までの検討からであると、若い歯科医師において院内感染対策を導入している傾向が強かったが、今回もスタンダードプリコーションの理解率や患者ごとのハンドピースの交換で40歳未満のグループが他の年代よりも高い比率上昇を示した。そのことが、HIV感染者の積極的な歯科治療の受け入れにつながっていることが考えられた。しかし、自分の診療所や自分以外の診療所における歯科治療を行う意志や倫理観、院内感染対策の行動は、各年代とも似たような比率で上昇していた。研修会への参加について、20年度では低かった40歳以下や40から50歳代の年代が23年度に急上昇していることが明らかとなった。今まであまり研修を受けていなかった若い世代の歯科医師が、研修を受けるようになった結果、スタンダードプリコーションなどの知識がさらに向上し、HIV感染者の歯科治療などの実際の行動にも表れている可能性が考えられた。

さらに解析を深めるために、実際にHIV感染者を治療した歯科医療機関と治療をしていない医療機関と分けて、各質問項目の

回答率を算出した。その結果、スタンダードプリコーションの理解率、HAART療法の知識、防護用メガネの着用、B型肝炎ワクチンの歯科医師の接種、スタッフの型ワクチン接種、口外バキュームの設置が、HIV感染者の歯科治療と密接に関係をしており、知識、意識、行動の多くの項目を行っている若い歯科医師でHIV感染者の歯科治療を行えるようになる自信につながると考える。一日の患者数の検討から、経済的な余裕がHIV感染者の歯科治療につながった可能性は平成23年度で若干見られたが、大きな影響ではなかった。本人の意識の変化が大きく院内感染対策の向上につながり、それに影響を与えたのは、研修会であったり、行政の取り組みであったり、社会的な情勢であったり、いろいろな要因が重なっているのだろうと考えられた。それにいち早く対応できるのが若い歯科医師であると考えられる。

1年以内にできる項目としてスタッフへのB型肝炎ワクチンが挙げられたが、実際の行動へは積極的に移されていないことが明らかとなった。特に、一番影響を与える可能性のある患者ごとのハンドピースの交換や口外バキュームの設置の上昇率は緩やかであり、今後の対策が必要な部分であると考えられた。

「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」

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。

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るため、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し、カップリング部の定期的洗浄消毒が必要であることがわかった。

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、微生物のコロニーが検出されはじめ、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、米国CDCの推奨する500 CFU/ml 以下であったため、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10～30ppm 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DUWL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DUWLとの相違が認められた。以上のことより、本システムはDUWL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微酸性電解水使用に対して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ことが必要であるが、現段階ではDUWL水への金属溶出はなく、機能的な障害は認められていない。しかし、本チェアユニットは微酸性電解水使用に耐えうる部材に改良されており、一般に市販されているチェアユニットのDUWLは水道水を流すことを前提とした部材が使用されているため、微酸性電解水を流すと腐食しやすく、金属溶出や機能的な不具合の発生が懸念される。使用されている部材は、メーカーによっても多種多様であるため、微酸性電解水を応用する際には、事前の入念な調査と使用中の管理が重要である。

微酸性電解水は、DUWLから分離された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。またバイオフィーム状態の微生物に対しては、微酸性電解水は多量に用いることが重要であることがわかった。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。

「バイオフィー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」

① 岡山大学泌尿器病態学分野では、平成 14 年度に導入した *in vitro* バイオフィルム実験モデル系のキャピラリーフローセルシステムを使用して、各種阻害候補化合物を評価してきたが、より効率的にスクリーニングできるデバイスの開発が望まれた。バイオフィル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ルムは、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、抗バイオフィルム剤の開発には、様々な研究手法による多面的アプローチが必要である。平成 22 年度に特許を取得した新規マイクロ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。

本年度、最新型マイクロデバイス(薬剤混合タイプ)の有用性についてフローセルシステムにおいて検討した結果、各種阻害候補化合物のスクリーニングに有用な実験系として確立することができた。本実験系は歯科医療における抗バイオフィルム剤の開発に向けて応用可能である。

② 調査を行った患者 27 名中 23 名は、口腔(歯垢・粘膜)や吸引痰に日和見病原菌を保菌しており、16 名は口腔と吸引痰からの分離株が同一菌種であった。尿からの検出菌が口腔と吸引痰と同種であった患者は 9 名で、全て緑膿菌であった。PFGE 解析において、MRSA の交差感染が確認された。通常、口腔の日和見病原菌の保菌調査は

実施されないため、口腔ケアを行う看護師や看護助手は、口腔ケアが病原菌の伝播拡散の誘引と考えるよりもむしろ、口腔内汚染を浄化させる機会として捉える。医療従事者の口腔ケアによる交差感染リスクの認識は気管吸引に比べて低く、日和見病原菌の伝播拡散防止のためには、障害者病棟患者の多くが口腔や吸引痰に日和見病原菌を保有していることを周知させる必要がある。口腔ケアを必要とする患者の多くは喀痰吸引のみならず排泄・皮膚ケアなどの日常生活ケアを必要としており、院内感染対策上、日和見病原菌の保菌患者に対しては標準予防策と接触予防策を厳格に実施する必要がある。特に医療依存度の高い患者に対しては、歯科医師・歯科衛生士との連携を促進し、口腔ケアを含む全身的な感染管理方法を確立することが重要である。

「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」

#### 1. 造血細胞移植患者 *mecA* 保有細菌の感染頻度

造血細胞移植患者の 62% から、*mecA* を検出した。一方で、対照者からは全く検出されなかった。ただし、*mecA* を検出した造血細胞移植患者が MRSA 感染症を発症しているわけではなかった。

#### 2. LAMP 法による *vanA* と *vanB* の検出

- 1) 特異性は高く検出できた。
- 2) 感度は、LAMP 法が PCR 法よりも高かった。
- 3) 生菌から直接に検出すると、*vanA* で 1/10 感度が低下した。しかし、PCR 法よりも感度は高かった。

今回の preliminary な調査から、易感染

性状態となる白血病患者で造血幹細胞移植を行う患者の口腔内には、MRSA 感染症を発症していないにもかかわらず、メチシリン耐性遺伝子 (*mecA*) を保有する細菌が感染していることがわかった。それも、比較的若い健康者では全く検出されないのに対して、60%を越える頻度で検出できた。周術期の専門的口腔衛生管理を行う際には、院内感染に慎重に配慮しなければならないことがわかった。

今後、この結果を2012年に開催される国際学会である「癌支持療法多国籍学会・国際口腔腫瘍学会」の合同会議 (NY, USA) で発表する。そこにおいて、種々の意見を入れながら、今後の本格的な調査 (特に周術期全般に関して) を検討していく。

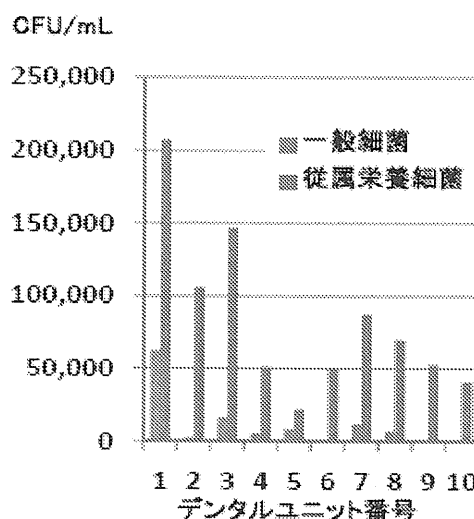
一方で、*mecA* の検出に効果的であった LAMP 法を、最近に感染が多くなっているバンコマイシン耐性菌の検出に用いるために応用した。*vanA* と *vanB* の検出に効果的 (迅速で感度・特異性が良い) であることがわかった。

こうした、一般開業歯科医院で、さらには在宅医療の現場で、迅速でかつ簡便にこうした耐性菌の遺伝子を検出する工夫を行う必要がある。今後、検出機器の開発・改良が必要である。

#### 「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」

日常の歯科診療終了後、3日半の給水停止によって、診療開始時には、調べたデンタルユニット給水系の水はいずれも CDC が推奨する従属栄養細菌数 500CFU/mL 以下の基準に、また水道水の水質管理基準として提唱されている従属栄養細菌数

2,000CFU/mL 以下の基準にも達していなかった (図1)。さらに一般細菌 100CFU/mL 以下という水道水の水質基準も満たしていな



かった。

図1. 各デンタルユニットにおける細菌数

デンタルユニット給水系の主な細菌汚染原因細菌種としては、*Novosphingobium* sp.

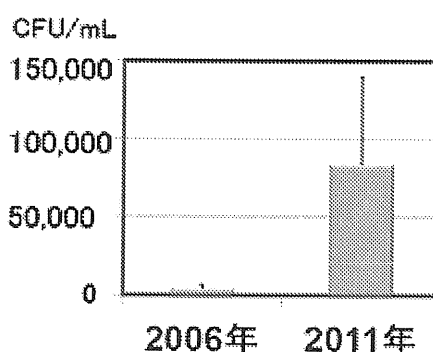


図2. デンタルユニット水の細菌数の経年変化  
や *Methylobacterium* sp. などが同定された。

また、前回2006年に調査したデンタルユニット給水系の従属栄養細菌数に比べて今回は約20倍にその細菌数が増加して、デンタルユニット給水系配管内におけるバイオフィルムの蓄積が懸念された (図2)。



新規デンタルユニットについて半年ごと給水系の従属栄養細菌数を追っていくと、やはり初流水で経年ごとに従属栄養細菌数の増加が認められた。一方、診療開始時の

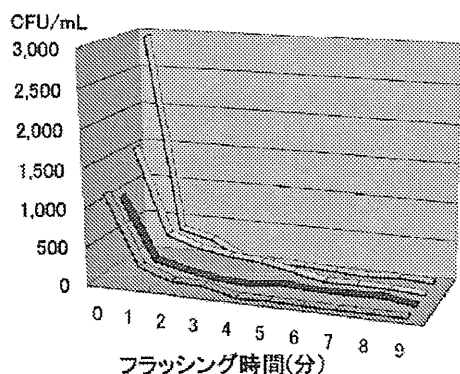


図3.新規デンタルユニット水の細菌数の経年変化  
初流水における細菌数は数分間のフラッシングによって減少し、水道水の基準値以下になることが判った（図3）。

また、院内感染の原因細菌として注目されている MRSA や VRE や MDRP や MDRA またレジオネラ菌などは今回の調査では検出されなかった。ただし、一部の MDRA 選択培地に増殖したコロニーは日和見感染の原因ともなりえる *Stenotrophomonas* sp. であった。

今回の調査で、診療が終了して給水停止後にはデンタルユニット給水系の細菌数は増加し、診療開始時の初流水ではいずれも水質基準を満たしていないことが判った。その給水系中に生息する主な細菌種としては、*Novosphingobium* sp. や *Methylobacterium* sp. また *Stenotrophomonas* sp. などが同定された。これらの菌は、歯科診療室デンタルユニットの給水系内でバイオフィルムを形成し、残留塩素などにも抵抗性を示すことが考えられる。今回の調査では院内感染で問題となるような多剤耐性菌やレジオネラ菌などは検出されなかった。また、検出された細

菌の病原性については、健康な人に対してはほとんど問題にならないが、歯科診療機会が近年増加している高齢者や抵抗力の弱い易感染性の患者には、日和見感染の危険性があり、十分に注意すべきであろう。

これまでのところでは、診療開始前における十分な通水（フラッシング）がもっとも安価で現実的なデンタルユニット給水系の水質改善にとっての対策ではあるが、デンタルユニット給水系の過酸化水素水（0.025～0.25%）や中性あるいは微酸性電解水（次亜塩素酸）を用いた自動消毒・洗浄システム設置さらにはユニット内部給水管を抗菌コートしたチューブへの交換などがより効果的で望ましいと考える。

今後もデンタルユニット給水系における細菌汚染状況や院内感染の原因となる薬剤耐性菌の分布状況について引き続きモニタリング調査をしてゆきたい。

#### D. 結論

「一般開業歯科医療における院内感染対策の評価指標の標準化とその歯科医師への導入プログラムの作成」

この3年間の取り組みにより、全体的な院内感染対策取り組み率の向上が認められた。これは、若い歯科医師を中心に各年代とも上昇傾向が認められた。しかし、実際の HIV 感染者の歯科治療を行っていたのは、若い歯科医師に多く、患者ごとのタービンヘッドの交換や口外バキュームの設置、スタンダードプリコーションの理解を各年代に行わせることが重要であることが考えられた。院内感染対策11項目の中で、者ごとのタービンヘッドの交換、スタッフの型肝炎ワクチン接種や口外バキュームの設置

を院内感染対策のランクアップするための鍵として、院内感染対策の普及活動に有用であることが明らかとなった。ランク付けの評価も今後修正が必要であることが明らかとなった。

「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」

1. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 使用したクリーンシステムは 37 ヶ月間、微酸性電解水を使用したクリーンシステムは、17 か月間、DUWL 水の汚染対策としての有効性が保たれていた。
2. 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。バイオフィームに対して、全ての菌で微酸性電解水処理での代謝活性が低下したが、電解水の交換を行なった場合に効果が大きかった。
3. 微酸性電解水使用の DUWL 水への金属の溶出はいずれの採取部位においても水道法に定められる水質基準値以内であり、微酸性電解水の金属に対する劣化・腐食性は少ないことがわかった。

「バイオフィー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」

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り、新規抗バイオフィーム剤

の開発に取り組むことも重要である。一方、慢性期病院のみならず在宅医療においても口腔ケアの改善を推進することが必要であり、歯科医師・歯科衛生士とのさらなる連携が求められている。

「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」

病院歯科における院内感染防止システムとして、以下の 2 点を今回の結論とする。

1. 易感染性状態になる患者は、周術期において薬剤耐性遺伝子を保有する細菌に高頻度で不顕性に感染している。
2. バンコマイシン耐性菌の検出に効果的な LAMP 法を考案した。

「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」

歯科診療室においてデンタルユニット給水系からの細菌汚染を防止するためには、日々の診療開始前における十分な通水（フラッシング）や定期的な水質検査が重要である。特にデンタルユニットから供給される水中の総細菌数に加えて、院内感染対策で問題となる多剤耐性菌やレジオネラ菌をはじめとする様々な病原細菌に今後も、注意していく必要がある。

## E. 研究成果発表

### 論文発表

1. Akio Tada, Hidenobu Senpuku. Attitudes towards HIV-infected patients, knowledge related to HIV/Universal precautions, and infection control practices of Japanese dentists. *Journal of Dental Health* 2011, 61: 273-281.
2. Naoki Narisawa, Taketo Kawarai, Naomi

- Suzuki, Yutaka Sato, Kuniyasu Ochiai, Makoto Ohnishi, Haruo Watanabe, and Hidenobu Senpuku. Competence-dependent endogenous DNA rearrangement and uptake of extracellular DNA gives a natural variant of *Streptococcus mutans* without biofilm formation. *Journal of Bacteriology*, 2011, 193: 5147-5154.
3. Ryoma Nakao, Hideki Hasegawa, Kuniyasu Ochiai, Shogo Takashiba, Akira Ainai, Makoto Ohnishi, Haruo Watanabe, and Hidenobu Senpuku. Outer membrane vesicles of *Porphyromonas gingivalis* elicit a mucosal immune response. *PLoS ONE*, 2011, 6(10): e26163.
  4. Tatsuro Ito, Takahide Maeda, and Hidenobu Senpuku. Roles of salivary components in *Streptococcus mutans* colonization in a new animal model using NOD/SCID.*e2fl*<sup>-/-</sup> mice. *PLoS ONE*, 7(2): e32063. 2012.
  5. 泉福英信、歯科領域と口腔感染症について、*バムサジャーナル*、2011. 23: 3-6.
  6. 小澤寿子、中野雅子、木村泰子、新井高、歯科用ユニット給水管路の新クリーンシステムの評価、*日本歯科保存学雑誌* 54 (3) 193-200, 2011.
  7. 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：緑膿菌性バイオフィーム形成阻害剤のスクリーニングにおける新規マイクロデバイスの有用性について。緑膿菌感染症研究会講演記録 45: 84-88, 2011.
  8. 佐藤法仁：シリーズ院内感染対策塾 第3回 滅菌・消毒・洗浄の基礎 (1). *ZOOM UP*, 133, 34-35, 2011年8月.
  9. 佐藤法仁：シリーズ院内感染対策塾 第4回 滅菌・消毒・洗浄の基礎 (2). *ZOOM UP*, 134, 34-35, 2012年2月.
  10. 佐藤法仁：感染制御学ノート vol.1 感染制御と微生物. *DH style*, Vol.6, NO.66, 14-15, 2012年1月.
  11. 佐藤法仁：感染制御学ノート vol.2 細菌. *DH style*, Vol.6, NO.67, 14-15, 2012年2月.
  12. 佐藤法仁：感染制御学ノート vol.3 ウイルス. *DH style*, Vol.6, NO.68, 14-16, 2012年3月.
- 学会発表
1. Akio Tada, Hidenobu Senpuku, Attitudes towards HIV infected patients, knowledge related to HIV/Universal precaution, and infected control practices in Japanese dentists, 第59回国際歯科研究学会日本部会(JADR) 学術大会, 広島, 10月9日, 2011年.
  2. 池野正典, 中野雅子, 小澤寿子、歯科診療用水回路の汚染対策、第27回日本環境感染学会 2012. 2. 3-4.
  3. 中野雅子、高尾亜由子、前田伸子、微酸性電解水のユニット水由来細菌に対する効果、第20回日本口腔感染症学会学術集会 2011. 11. 12-13.
  4. 狩山玲子、上原慎也、公文裕巳、「バイオフィーム形成阻害剤のスクリーニングにおける新規マイクロデバイスの有用性に関する検討」、第85回日本感染症学会総会：東京 2011, 4. 21-22.
  5. 狩山玲子、光畑律子、上原慎也、渡辺豊彦、公文裕巳、「新規マイクロデバイスにおける緑膿菌性バイオフィームに対するコリスチンの有効性評価」、第59回日本化学療法学会総会：札幌

- 2011, 6. 23-25。
6. 狩山玲子、光畑律子、和田耕一郎、上原慎也、渡辺豊彦、公文裕巳、「緑膿菌性尿路バイオフィーム新規 *in vitro* 実験モデル系での抗バイオフィーム剤の探索」、第 22 回 尿路感染症研究会：岐阜 2011, 10. 16。
  7. Reiko Kariyama, Hiromi Kumon、「Development of novel methods for the search of antibiofilm agents」、The Joint Meeting of The XVIIth International Symposium on Gnotobiology and The XXXIVth Congress of the Society for Microbial Ecology and Disease: Yokohama, 2011, 11. 20-23
  8. 渡辺朱理, 佐藤法仁, 苔口 進：日本と米国の歯科衛生士学校生における感染予防対策教育に関する知識と認識についての比較調査. 第 6 回日本歯科衛生学会学術大会（新潟市，朱鷺メッセ新潟コンベンションセンター）平成 23 年 9 月。
  9. 苔口 進：歯科診療における汚染状況の把握とその対策について. 第 20 回日本口腔感染症学会総会・学術集会（第 131 回 ICD 講習会）（横浜市，鶴見大学・大学記念館 記念ホール）平成 23 年 11 月。
  10. 佐藤法仁, 渡辺朱理, 苔口 進：歯科衛生士の身だしなみに対する不快感調査. 第 27 回日本環境感染学会総会（福岡市，福岡国際会議場，福岡国際センター，福岡サンパレス）、平成 24 年 2 月。
1. 平成23年3月11日 知的財産権を鶴見大学（代表者 木村清隆）に譲渡
  2. 特許出願 平成23年3月18日 特願 2011-060131 医科歯科用診療台
  3. 特許出願 平成23年3月18日 特願 2011-060132 医科歯科用診療台

F. 知的財産権の出願・登録状況  
特許