

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

歯科医療機関における効果的な院内感染対策の促進に関する研究

平成 25 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 泉 福 英 信

平成 26 (2014) 年 3 月

目 次

Ⅰ．総括研究報告書	
歯科医療機関における効果的な院内感染対策の促進に関する研究	----- 1
泉福英信	
Ⅱ．分担研究報告書	
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 ・全国における院内感染対策研修会開催システムの構築および院内感染対策普及のための書籍作成 ・ATP 法による院内環境汚染状況の測定システムの構築 ・歯科医療における院内感染対策普及のためのシンポジウムの開催	----- 19
泉福英信、小森康雄、米田早織、北川善政、佐藤淳、岩淵博史、 秋野憲一、永易裕樹、齊藤正人、池田和博、佐々木健、鳥谷部純行、 後藤衛、榊原典幸、宮田泰、鈴木治仁、筑丸寛、井上一彦	
2. 給水汚染防止システムを取り入れたデンタルチェアユニットの微生物汚染除去システムの開発	----- 53
小澤寿子、長谷川（中野）雅子、高尾亞由子、池野正典	
3. 病院歯科における院内感染対策促進のための科学的な評価指標の分析	----- 63
高柴正悟	
4. 評価指標を利用した院内感染対策促進のための細菌学的検査の確立 -歯科医療環境におけるタバコシバンムシの生息状況調査-	----- 67
苔口 進、佐藤法仁、渡辺朱理	
Ⅲ．研究成果の刊行に関する一覧表	----- 73
Ⅳ．研究成果の刊行物・別刷	----- 75

I . 総括研究報告

歯科医療機関における効果的な院内感染対策の促進に関する研究

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

「歯科医療機関における効果的な院内感染対策の促進に関する研究」
(H24-医療-指定-044)

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： 歯科医療の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30%前後と低く不十分な状態である。全ての歯科医師に対応できるSPを導入させることは急務である。そこで本研究は、今までの研究により構築された院内感染防止プログラムをいかに普及させていくかを課題とし、よりよい歯科医療における院内感染対策システムを促進していくことを目的とし、4つの研究班を組織して研究を行った。

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」「全国における院内感染対策研修会開催システムの構築および院内感染対策普及のための書籍作成」「ATP法による院内環境汚染状況の測定システムの構築」「歯科医療における院内感染対策普及のためのシンポジウムの開催」歯科医師会所属歯科医師に対するアンケート調査を行った結果、行政の取り組みにいち早く反応して、積極的に院内感染対策に投資する歯科医師程、自院でHIV感染者の歯科治療を行える歯科医師の比率が高いことが明らかとなった。また、各都道府県の歯科医師会所属院内感染対策普及ならびにHIV感染者歯科治療ネットワーク事業の担当者を集めシンポジウム開催を進めた。その結果、各地区で行っている事業の成果や研究事業の成果を合わせて討論する機会をつくることが重要であることが明らかとなった。院内環境の汚染を瞬時に評価できるATP法、情報発信、シンポジウム、各都道府県歯科医師会との連絡会議の開催、講師育成研修会の開催、研修、実習システムの整備などの活動が今後院内感染対策を普及していくために重要である。

2. 「給水汚染防止システムを取り入れたデンタルチェアユニットの微生物汚染除去システムの開発」では、歯科用チェアユニットの給水管路（DUWL）のバイオフィルム形成と水汚染の対策として、鶴見大学歯学部附属病院に2008年に設置された過酸化水素水による新しい水回路クリーンシステム搭載の歯科用チェアユニット、およびDUWLに微酸性電解水を流入して診療に使用できる歯科用チェアユニット（2010年試作開発）の有効性について、昨年度に引き続き評価した。2種類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、これらの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明らかとなった。

3. 「病院歯科における院内感染対策促進のための科学的な評価指標の分析」では、医学の進歩によって易感染状態の患者が増加している。これらの患者に対する病院内歯科の医療現場では、患者個々の全身状態に対応した感染対策を取る必要がある。その際の留意点は、医科との検査データの共有と、歯科診療の際の標準予防策の実施である。特に、患者の日和見菌、あるいは薬剤耐性菌の保有状況を把握することは感染対策を講じる上で重要となる。

4. 「評価指標を利用した院内感染対策促進のための細菌学的検査の確立」では、歯科医院における日本の家屋における代表的な病害微小昆虫タバコシバンムシ（*Lasioderma serricirne*）を対象に薬剤耐性遺伝子（*mecA*、*vanA*および*vanB*、*blaVIM-2*および*blaIMP-1*）を指標に調査を実施した。昨年は記録的な猛暑の影響か、タバコシバンムシの捕獲匹数は前年に比べて1.5倍から2倍多くなっていた。タバコシバンムシからは各種薬剤耐性遺伝子は検出されなかった。アンケート調査では、タバコシバンムシのそのものに対する認知度は低かった。

研究分担者

小澤寿子 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
井上一彦 鶴見大学歯学部探索歯学講座
非常勤講師
米田早織 広島大学歯学部薬理学 研究員
北川善政 北海道大学大学院歯学研究科
教授

秋野憲一 北海道保健福祉部福祉局高齢者
保健福祉課 主任技師

岩淵博史 国立病院機構栃木病院口腔外
科 医長

佐藤淳 北海道大学大学院歯学研究科
助教

永易裕樹 北海道医療大学歯学部 教授
齊藤正人 北海道医療大学歯学部 教授
池田和博 北海道医療大学歯学部 准教授
佐々木健 北海道保健福祉部健康安全局地
域保健課 医療参事

鳥谷部純行 医療法人回生会大西病院 歯
科口腔外科部長

後藤衛 後藤歯科医院 院長

榊原典幸 医療法人母恋日鋼記念病院 歯
科口腔外科

宮田泰 愛知県歯科医師会 理事

鈴木治仁 鈴木歯科クリニック 院長

筑丸寛 北海道大学大学院歯学研究科 助

教

(小澤班)

長谷川(中野)雅子 鶴見大学歯学部助教
高尾亞由子 鶴見大学歯学部 助教
池野正典 鶴見大学歯学部 臨床助手

(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」「全国における院内感染対策研修会開催システムの構築および院内感染対策普及のための書籍作成」「ATP法による院内環境汚染状況の測定システムの構築」「歯科医療における院内感染対策普及のためのシンポジウムの開催」「ホームページ作製と院内感染対策導入プログラムのPDF ファイルダウンロードシステムの構築」
平成 21 年度に起こった新型インフルエンザパンデミック、22 年度は多剤耐性菌による院内感染等、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られた。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%前後と低かった。しかし、平成 21 年度の継続研究事業では 10～15%のその理解率の上昇が認められ、平成 19 年には医療法の一部改正や各県の歯科医師会の取り組み、本研究班における研究成果の公開等の一定の成果が見られるようになってきた。一方、HIV 患者を自分の歯科医院にて歯科治療を受け入れる歯科医師は、某県において平成 18 年度 20.5%から平成 22 年度で 17.3%と上昇しておらず、HIV という特

殊な感染症とはいえ、現在右肩上がりで急上昇中の HIV 感染患者の歯科治療に対する意識改革が進んでいないのが現状である。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。我々の研究活動では、将来できうる院内感染対策 11 項目を確立することができた(図 1)。それらの中で、手袋、防護用眼鏡の着用以外に院内感染対策の講習会への参加、院内感染対策のスタッフへの教育とスタッフへの B 型肝炎ワクチン接種が比較的容易に 1 年以内に達成できる項目であった。これらを重要課題とし、意識、行動に一番影響を与えていた患者ごとのタービンヘッ

ドの交換を次に導入すべき最重要課題であることが明らかになった。

本年度の研究課題は昨年度と同様に、構築された院内感染防止プログラムをさらに発展させていかに普及させていくかである。各都道府県歯科医師会では HIV 感染者の歯科治療に対する取り組みを各都道府県の行政とともにやっている。行う度合いは各都道府県によって異なるが、HIV 感染者の歯科治療をスムーズに取り組めるようにしている。これらの取り組みは、各都道府県歯科医師会が独自に作成したプログラムを基に行っているためその効果の違いを参考にすることによって、普及システムの構築を検討することができる。某 F 県歯科医師会は、各地区での研修会を積極的に行い HIV 感染者の歯科治療ができる研修システムを構築している。この県歯科医師会の会員に対していままでの本研究事業と同じアンケート調査を行い、どのような効果の違いがあるか検討することによって、普及方法を検討することができると考えた。そこで、某 F 県でのアンケート調査を行った。また研修会の開催システム構築、院内感染対策の書籍化を検討した。1 年以内に実現することが困難であるという項目の中に院内環境の汚染検査がある。我々の研究事業では、院内環境の汚染を簡単に測定する手段として ATP 法を利用する汚染検査法を確立した。この ATP 法の活用に関して、実際に一般歯科医院の歯科医師に使用してもらいどのような結果が現れるか検討を行った。

これらの成果を総合的に検討し、研究期間内で院内感染対策普及プログラムを

検討していくことを目的とする。

「給水汚染防止システムを取り入れたデンタルチェアユニットの微生物汚染除去システムの開発」

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微生物学的汚染度は高く、 $10^4 \sim 10^7$ CFU/ml に達すると報告されている。その微生物の大部分は病原性の低い従属栄養性水生細菌であるが、易感染性宿主で日和見感染症を起す可能性のある *Pseudomonas* , *Legionella* , *Mycobacterium* , *Candida* なども検出されることがある。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、直径が小さく、流量に相対して表面積が大きい、チューブ内の水には、高圧がかからない、水流の速度が壁近くでは遅い、という問題点がある。すなわち、チューブの内壁付近では水の流速は0に近くなり、流入する水の中には微生物が少なくても時間経過に伴って管壁へのバイオフィーム形成が起こりやすい。この表面を水が流れる際に、微生物を巻きこみ、汚染の原因となる。

DUWL の汚染対策の基準として、米国の **American Dental Association** では歯科用チェア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、日本では歯科用チェア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。

本研究では、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、および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について、DUWL バイオフィーム形成抑制効果を、前年度に引き続き評価することを目的とした。さらに、形成されたバイオフィームへの対策として、まだ国内で開発されていない DUWL 用洗浄消毒剤を開発することを目的として、試作薬剤の殺菌効果と管路部材への影響を検討した。

「病院歯科における院内感染対策促進のための科学的な評価指標の分析」

病院歯科の現場では、医学の進歩の結果として癌患者や臓器移植患者、さらには高齢者も含め、易感染性状態の患者数が増加している。こうした状況下での歯科診療における院内感染対策は、非常に重要となる。

病院内では医科歯科両方にわたる電子診療録を用いていることが多いので十分な診療情報を得ることが可能となる。院内感染対策に関連する細菌学的データを得ることも可能ではあるが、医科で実施された検査の場合、口腔内からサンプリングを行うことは稀である。

こうした状況下での歯科診療では、独自に口腔内の細菌検査を実施し、薬剤耐性菌を主体とした日和見菌の患者分布を把握しておく必要がある。薬剤耐性菌の検査は病院の臨床検査部に依頼し、培養法を主体

として実施されることになる。培養法は薬剤耐性菌を検出するための確実な方法ではあるが、分子生物学的手法を取り入れることによって、検査の迅速性と簡便性の向上を図ることができる。

Loop-mediated isothermal amplification (LAMP)法は等温遺伝子増幅法のひとつであり、高い遺伝子増幅効率を示すことから、種々の感染症の迅速・簡易検査に応用されている。

*Enterococcus faecalis*などの腸球菌は根管内に定着し、根尖性歯周炎の原因となる。また、薬剤耐性を得た場合には院内感染の原因菌として大きなリスクをもつ細菌種となる。今回の研究においては、LAMP法を応用し、バンコマイシン耐性腸球菌(VRE)に対する迅速・簡易検査を確立することを目的とした。また、歯科における院内感染対策促進の一環として、歯科チェアサイドあるいはベッドサイドで実施する細菌検査を念頭に、その有用性について評価した。

「評価指標を利用した院内感染対策促進のための細菌学的検査の確立」

- 歯科医療環境におけるタバコシバンムシの生息状況調査 -

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って家屋内での南京虫(*bedbugs*)の大量発生が問題となっている。またゴキブリやハエなどの病害微小昆虫がベクター(運び屋)として感染症の病因微生物や薬剤耐性菌の拡散に関与しているのではと危惧されている。さらに、近年多剤耐性緑膿菌(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ている。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)やメタロ-ラクタマーゼ(*blaVIM-2*, *blaIMP-1*)を産生する薬剤耐性菌などは通常、院内感染対策において十分注意すべき細菌群である。

そこで、歯科医療環境調査として日本の家屋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 serricorne*)の歯科医院における生息状況を2012年夏(8月、9月)に引き続き、記録的な猛暑であった2013年夏(8月、9月)にも調査した。またタバコシバンムシにおける薬剤耐性菌の有無についても薬剤耐性遺伝子(*mecA*、*vanA* および *vanB*、また *blaVIM-2* および *blaIMP-1*)を指標にPCR法を用いて調査を進めた。併せてアンケート調査も実施した。

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」「全国における院内感染対策研修会開催システムの構築および院内感染対策普及のための書籍作成」「ATP法による院内環境汚染状況の測定システムの構築」「歯科医療における院内感染対策普及のためのシンポジウムの開催」

- 1) 標準化された院内感染対策の評価指標を歯科医師への導入するためのプログラムの作成

院内感染対策おとび HIV 感染者の歯科治療を積極的に行える研修システムを構築している某 F 県の歯科医師会でアンケ

ート調査を行うことにした。その結果を本研究事業で1年おきにアンケート調査を行っている某A県での結果と比較することによって、どのような普及方法が有効であるか検討することを行った(図2)。国立感染症研究所における倫理委員会においてヒトにおける疫学研究の申請を行い、承認後、某A県で行ったアンケート調査を某F県で行った。

2) 全国における院内感染対策研修会開催システムの構築および院内感染対策

研修会の開催システム構築に関しては、日本歯科医師会や厚生労働省および各自治体で行う医療安全に関する事業について、我々の研究成果が生かせないか検討をお願いした。特に院内感染対策の研修を行う講師育成の重要性について検討をお願いした。

多くの歯科医師の目に留まる機会を増やすために、院内感染対策の書籍化を検討した。2部構成にし、第1部を医療安全、第2部を院内感染対策とし、1部を2項目、2部を10項目にしそれぞれの項目を協力研究者含む専門家に執筆をお願いした(別紙1)。

3) ATP法による院内環境汚染状況の測定システムの構築

国立感染症研究所の倫理委員会へ提出し審査を行った(別紙2)詳しい計画書は別紙に記載する(別紙3)。

1. 対象者 全国の歯科診療施設 20施設

2. 研究方法: 一般の診療をしている20

歯科医院において受付、作業台、ユニット周り、診療器具、印象、消毒コーナ等40か所でデータを収集した。ATP法はKIKKOMAN LUMITESTER PD-10N[®]を用いて、ATP値を算出した。院内感染対策を実施していない歯科診療施設と実施済みの歯科診療施設のデータを比較検討した。また、院内感染対策を実施していなかった歯科診療施設において、院内感染対策実施前と院内感染対策実施後(機能水使用)でデータを比較検討した。解析は、統計解析法;エクセル統計Ver.6にて行った。

4) 歯科医療における院内感染対策普及のためのシンポジウムの開催

平成26年3月2日、厚生科学研究班会議を兼ねて院内感染対策普及のための公開シンポジウムを開催した。プログラムを別紙に記す(別紙4)。4の都道府県から院内感染対策の普及およびHIV感染者の歯科治療ネットワークづくりについて講演をしていただいた。総合討論の場を設け、意見交換を行った。

5) ホームページ作製と院内感染対策導入プログラムのPDFファイルダウンロードシステムの構築

1)~4)までの研究成果を利用して全歯科医師を対象に、院内感染対策の導入およびレベルの向上を促すために、ホームページ作製し開発された院内感染対策導入プログラムを利用する歯科医師の裾野を広げる。

「給水汚染防止システムを取り入れたデンタルチェアユニットの微生物汚染除去シ

システムの開発」

1) H₂O₂ 希釈液 (1000 ppm) による自動洗浄装置を組み込んだシステムの評価

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 型、(株)モリタ社が対象である。

毎日の診療後に備え付けのタンクに入った H₂O₂ 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、H₂O₂ 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。H₂O₂ 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、チェアユニット給水元から流出する水を滅菌容器に採取した。残留塩素濃度を測定後、R2A 寒天培地上で 25、7 日間、標準寒天培地上で 37、48 時間、それぞれ塗抹培養し、コロニー数を測定した。

2) 微酸性電解水の生成供給装置を組み込んだシステムの評価

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: スペースライン™ イムシア 型、

(株)モリタ社が対象である。

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变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。

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 回診療後、H-1、H-2、コップ給水、チェアユニット給水元から流出する水を採取して、1) と同様に残留塩素濃度と微生物学的検索を行った。

3) DUWL 用洗浄消毒剤の開発

試作薬剤の DUWL より分離された優勢菌に対する殺菌効果の検討

海外で DUWL 洗浄の使用実績があり、かつ管路洗浄に多用される過炭酸ナトリウムを主成分とする試作薬剤についてまず検討した。前年度真鍮浸漬評価として、真鍮 (C 3 6 0 4 B D) 製の DUWL 部材を一定時間 (10、30、60、240、480、1440 分) 浸漬して、質量変化および肉眼的観察所見により

評価した結果、変化の認められなかった試作薬剤 M10 (過炭酸ナトリウム含有粉末 10g+水 300ml) を本実験に使用した。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) 排水より優勢に分離された *Sphingomonas* spp. , *Mycobacterium* spp.、*Methylobacterium* spp. を 96 穴平底マルチプレートに分注した R2A 培地に接種、25℃にて 5 日間培養してバイオフィームモデルとした。培養液を除去し、バイオフィーム表面を PBS にて洗浄後、被験液として試作薬剤 M10 (作用時間 5、30 分) 1.0%次亜塩素酸ナトリウム(作用時間 5 分) 滅菌蒸留水 (作用時間 5 分) 150 μ l を作用させた (n=5) 。反応時間後に 0.5%チオ硫酸ナトリウムにて薬液を中和し、PBS 洗浄後、Alamar Blue (Invitrogen)-R2A 混合液 100 μ l を添加して、室温における蛍光強度 (励起波長 : 530nm、蛍光検出波長 : 590nm) の上昇を、生残菌量の指標とした。さらにエタノール固定後、クリスタルバイオレット染色し、吸光度(OD620nm)を残存バイオフィーム量の評価とした。

試作薬剤の DUWL チューブ内に自然発生したバイオフィームに対する殺菌効果の検討

バイオフィームの付着した DUWL チューブを長さ 5 mm に切断してエッペンチューブに入れ、試作薬剤 M10(作用時間 5、30 分) 1.0%次亜塩素酸ナトリウム(作用時間 5 分) 滅菌蒸留水 (作用時間 5 分)、各 1ml を作用させた (n=5) 。被験液除去、PBS 洗浄後、96 穴平底マルチプレート上の R2A 培地中で 25℃、14 日間培養した。培地の吸光度 (OD620nm) を測定して菌の生残を評価した。

DUWL チューブ付着バイオフィーム対して試作薬剤作用後残存した菌種の同定

実験 3)- を行った後、培地から生残菌を分離、純培養し、菌 DNA から PCR により増幅した 16S rRNA 領域の配列を解析し、NCBI データベースと照合して菌種同定を行った。

試作薬剤に耐性の強い菌種に有効な薬剤の検索

水回路より分離した *Methylobacterium* spp. を R2A 培地に懸濁し、平底マイクロプレートに分注し、5 日間、室温培養した。

試作薬剤 M10 (過炭酸ナトリウム含有粉末 10g+水 300ml) と試作薬剤 M5 (過炭酸ナトリウム含有粉末 5 g+水 300ml) に、塩化ベンザルコニウム 0、0.025%、0.05%、0.1%、0.2% (最終濃度) をそれぞれ混合し、直後に使用した。

マイクロプレートから培養上清を除去して水洗後、各被験液 150 μ l を添加し 5 分間作用させた。水洗後、前述と同様に、Alamar Blue の蛍光量変化により生残菌代謝量を、クリスタルバイオレット染色によりバイオフィーム量を測定した。

「病院歯科における院内感染対策促進のための科学的な評価指標の分析」

1 . プライマーの設計

VRE が保有する薬剤耐性遺伝子 (*vanA*, *vanB*) を増幅するための LAMP 用プライマーを専用のソフトウェア (Primer Explorer, Fujitsu) で設計した (表 1) 。

2 . LAMP 反応

Loopamp DNA amplification kit (Eiken Chemical) を使用し、64℃で 30 分間の遺伝子増幅反応を行った。鋳型 DNA は表 2 に示した供試菌から、簡易抽出 (ボーリング)

によって調製した。また、従来の PCR 法による遺伝子の増幅を平行して行い、検査結果を比較した。

3. 増幅遺伝子の検出

LAMP 法ならびに PCR 法によって増幅された遺伝子の検出は電気泳動後 (2%アガロース),エチジウムブロマイド染色することによって検出した。また、LAMP 遺伝子増幅産物については、反応チューブに SYBR-Green I を添加し目視による検出を試みた。

「評価指標を利用した院内感染対策促進のための細菌学的検査の確立」

- 歯科医療環境におけるタバコシバンムシの生息状況調査 -

1. 歯科診療室におけるタバコシバンムシ生息状況調査： 2012 年夏のタバコシバンムシ生息状況調査に協力頂いた歯科診療所 14 軒 (A 県; 8 軒、B 県; 4 軒、C 県; 1 軒、D 県; 1 軒) の 1 診療室の同じ 3 ヶ所にタバコシバンムシトラップ (NEW SERRICO: 富士フレーバー社製) を仕掛け、1 ヶ月ごとにトラップを回収して、2 ヶ月間 (2013 年 8 月と 9 月) にわたって、昨年と同様に実施した。また今回も一般家庭 3 軒 (A 県) の台所についても調査した。

2. 薬剤耐性菌の PCR 検査： 歯科診療所 1 軒あたりで捕集されたタバコシバンムシ 8 匹をランダムにまとめ、それらからの DNA 抽出は InstaGene Matrix とともにディスポーザブル・ホモジナイザーを用いてすり潰して調製した。薬剤耐性菌は MRSA については *mecA*、VRE については *vanA* および *vanB*、さらにメタロ-ラクタマーゼ産生薬剤耐性菌については *blaVIM-2* および

blaIMP-1 のそれぞれの薬剤耐性遺伝子を増幅する特異的な PCR プライマーを用いて PCR 法で増幅し、増幅 DNA 断片の有無をアガロース電気泳動で確認することによって検査した。

また、タバコシバンムシが保菌する細菌種は PCR 法で増幅した細菌 16S リボソーム RNA 遺伝子の塩基配列を分析して同定した。

3. アンケート調査： 歯科医院におけるタバコシバンムシ生息状況調査に関して各歯科医院に郵送調査法によるアンケート調査を実施した。そのアンケートの内容は以下の通りである。

【質問 1】タバコシバンムシについてご存知ですか (でした) か。a) 良く知っている、b) ある程度知っている、c) 名前は聞いたことがある、d) 全然知らない。

【質問 2】タバコシバンムシ生息調査についてのご感想をお聞かせ下さい。a) とても興味を持てた、b) やや興味を持てた、c) どちらとも言えない、d) あまり興味を持ってない、e) 全然興味を持ってない。

【質問 3】タバコシバンムシ生息調査方法 (トラップ組み立てや設置など) はいかがでしたか。a) とても簡単だった、b) やや簡単だった、c) どちらとも言えない、d) やや煩雑だった、e) とても煩雑だった。

【質問 4】地球温暖化の影響等による害虫の発生についてのご感想をお聞かせ下さい。a) とても気になる、b) やや気になる、c) どちらとも言えない、d) あまり気にならない、e) 全然気にならない。

【質問 5】貴院における日頃の屋内害虫対策はどのようにされていますか。a) 定期的

に専門の清掃(駆除)業者に依頼している、b) 必要に応じて専門の清掃(駆除)業者に依頼している、c) 市販の殺虫剤や害虫駆除用品(ゴキブリホイホイなど)を用いて対処している、d) 特に何もしていない。

【質問6】タバコシバンムシ生息調査結果を見て何か貴院の屋内害虫対策をされましたか。a) 専門の清掃(駆除)業者に依頼した、b) 市販の殺虫剤や害虫駆除用品(ゴキブリホイホイなど)を用いて対処した、c) 特に何もしていない。

【質問7】次回またこのようなタバコシバンムシ生息調査がある際には利用したいですか。a) ぜひ利用する、b) 機会があれば利用する、c) どちらとも言えない、d) あまり利用しない、e) 全然利用しない。

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」 「全国における院内感染対策研修会開催システムの構築および院内感染対策普及のための書籍作成」 「ATP法による院内環境汚染状況の測定システムの構築」 「歯科医療における院内感染対策普及のためのシンポジウムの開催」

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

某F県における積極的な研修会の開催により HIV 感染者の歯科治療を自分の歯科診療室で受け入れる歯科医師の比率が某A県よりも約 10%高いことが明らかとなった。また、感染対策のスタッフへの教育と院内感染対策のマニュアル作成において、F県はA県よりも高い数値を示した。一方、B

型肝炎ワクチンの接種率においてF県はA県よりも低い結果となった。また、スタンダードプレコーションの理解率、患者ごとのハンドピースの交換などの院内感染対策の重要とされる項目に大きな違いがなかった。某A県も積極的に研修会の開催、実習等を行っている。なぜこのような差がでたのか?これは、某F県の研修システムが効果を現した可能性がある。特に HIV 感染者の歯科治療について、徹底とした教育を行ってきた効果が現われた可能性がある。一方、某F県卒業年度が近年の歯科医師が某A県よりも比較的に多いこと。某A県は、歯科医師会会員が多く、研修会を開催の効果はすべての会員に行きわたりにくいこともこのような差が生まれた原因かもしれない。

F県において自院で HIV 患者を歯科治療できる歯科医師が多いことに着目して、治療できる歯科医師と治療できない歯科医師とにグループ分けをして、各質問項目の回答の差の検討を行った。まず卒業年度について検討すると、治療できる歯科医師は明らかに卒業年度が近年であることが明らかとなった。またスタンダードプレコーションの理解率も高く、患者ごとのハンドピースの交換、これらの結果はF県における研修会への参加、口腔外バキュームの設置など、多くの院内感染対策に関わる重要な項目を行っている比率が高いことが明らかとなったことから研修会の効果が現われていることが推測できる。さらに、平成20年度4月の診療報酬改定で外来診療体制加算が算定できるようになり、この中に口腔外バキューム設置も要件として加えられたのを受けて新たに設置した歯科医師と設置を

考えている歯科医師の比率が高いことも明らかとなった。行政の取り組みに反応して、自院に投資をする歯科医師が、自院で HIV 患者の歯科治療を受け入れることが明らかとなった。それは次の質問に対する回答でも伺えた。患者一人あたりいくぐらい投資ができるかの質問に対する回答で、高額な金額を回答した歯科医師の比率が、自院で HIV 感染者の歯科治療を受け入れる歯科医師において高かった。口腔外バキュームのような投資を促すような院内感染対策に対する対策が有効化もしれない。

2) 全国における院内感染対策研修会開催システムの構築および院内感染対策普及のための書籍作成

現在進行中であるため、特になし。

3) ATP 法による院内環境汚染状況の測定システムの構築

安全で汎用性のある強酸性電解水を使用し、院内感染対策の指導を行った結果、歯科医院の衛生管理は向上した。また、安価で迅速な ATP 法を用いて各診療所で定期的に継続してモニタリングを行うことは感染対策には有用であり、motivation を含めて院内感染指針に基づく指導が徹底される必要性が改めて示唆された。また、迅速かつ安価な ATP 法は汚染状況を把握するために有用であることが明らかになった。

4) 歯科医療における院内感染対策普及のためのシンポジウムの開催

各歯科医師会院内感染対策普及および HIV 感染者の歯科治療ネットワーク作りの担当者との交流が重要であることが明らか

となった。その取り組みの成果ならびに本研究班の成果を合わせた意見交換が必要であることも明らかとなった。

「給水汚染防止システムを取り入れたデンタルチェアユニットの微生物汚染除去システムの開発」

H₂O₂ 希釈液 (1000 ppm) による自動洗浄装置を組み込んだシステムでは、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と理由で H₂O₂ を DUWL 洗浄に選択した。このシステムについての 50 ヶ月間の検証で水質が維持されていることが確認されたが、カップリング部の定期的洗浄消毒や除菌フィルター交換など、定期的な管理点検が必要なことがわかった。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。16S rRNA 塩基配列解析の結果、分離されてくる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。従属栄養細菌の培養用の R2A 培地は水道法の水質管理目標で

も使用が指示されている。

微酸性電解水生成装置を組込んだシステムでは、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。土曜・日曜と2日間チェア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43ヶ月間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の汚染防止、水に由来する感染の予防に有効であると考えられる。なお、本チェア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否定的な評価は得られていない。また現段階ではDUWL水への金属溶出をはじめ、水道法に定められた分析試験項目すべてにおいて水質基準をクリアしている。またチェアユニットへの機能的な障害は認められていないが、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いる。一般に市販されているチェアユニットに微酸性電解水を流すと部材が腐食しやすく、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。

一方、DUWL用洗浄消毒剤の開発には、部材への影響を考慮することが必須であるため、まず真鍮製の部材を米国製のDUWL用洗浄消毒剤、過炭酸ナトリウムを主成分とした試作薬剤などについて浸漬後評価し、影

響の少ない洗浄消毒剤と作用時間をまず選択した。この洗浄消毒剤のDUWL水より検出された優勢菌のバイオフィームへの殺菌効果を検討した結果、菌種により相違が認められた。さらに実際のDUWLチューブ上に形成されたバイオフィームについての効果を検討したところ、試作薬剤M10を30分作用させると、1%次亜塩素酸ナトリウム以上の効果が認められたが、試作薬剤作用後残存し分離された菌種は、*Methylobacterium aquaticum*、*Methylobacterium brachiatum*、*Mycobacterium mucogenicum*と同定され、とくに酸素系消毒薬に抵抗性を示す*Methylobacterium*に有効性を示す薬剤が必要と考えられた。それで、塩化ベンザルコニウムの*Methylobacterium*への有効性を確認した上で、試作薬剤との混合薬剤について検討した結果。単独で用いた場合よりも、塩化ベンザルコニウムと試作薬剤との併用は、単独使用時よりも高い殺菌効果を示し、各濃度の試作薬剤単独を対照群として比較した場合、混合液群にはいずれも有意な生残菌代謝活性の低下効果の増強が認められた。しかしながら、バイオフィーム量の指標は、とくに殺菌効果の高い薬液濃度の組合せで無処理対照より高く、バイオフィームの変質または薬剤のバイオフィームへの沈着が疑われた。

なお、本実験での反応条件は5分であったが、現場でのDUWL洗浄作業工程を考慮した場合、作用時間を変えてさらに評価する必要がある。また、塩化ベンザルコニウムと試作薬剤との混合液に真鍮(C3604BD)製のDUWL部材を一定時間浸漬して、質量変化を測定するとともに、肉眼的劣化等を観察して評価する予定である。

「病院歯科における院内感染対策促進のための科学的な評価指標の分析」

LAMP 法は遺伝子増幅効率が高く、増幅産物の量は PCR 法に比べて膨大な量となる。このため、目視による検査結果の判定が可能となる。この方法は薬剤耐性遺伝子に対しても応用可能であることが示された。培養法は確実に薬剤耐性菌を検出・同定することができるが、検査には数日を要する場合がある。これに比べ LAMP 法に要する時間は 30 分程度であり、迅速性に優れた特徴をもつことが確認できた。チェアサイドやベッドサイドでの歯科診療において有用性が高い方法であり、応用の可能性をもつと考える。

病院歯科においては、摂食嚥下などの機能訓練に加えて、口腔ケアを中心とした感染管理が実施される。感染管理の科学的な評価を行うには、細菌検査は不可欠である。最近では、口腔ケアによる唾液中の細菌数変化を評価する取り組みが実施されるようになってきた。院内感染対策の観点からは、これに加え、薬剤耐性菌を標的とした口腔細菌検査が必要と考える。我々は、歯科の介入によって、口腔内に生息しているメチシリン耐性黄色ブドウ球菌の排除に成功した症例を経験したことがある。病院歯科は、単に治療にともなう院内感染の拡大を防止するにとどまらず、積極的に院内感染の原因となる細菌種を口腔内から排除する役割を担う必要がある。このためには、病院歯科従事者が細菌検査法に通じ、適切な細菌検査を応用して患者の口腔内細菌叢の把握に努める必要があると考える。

「評価指標を利用した院内感染対策促進のための細菌学的検査の確立」

- 歯科医療環境におけるタバコシバンムシの生息状況調査 -

地球温暖化また節電の影響で国内でも発生が懸念されている病害微小昆虫について、まず、タバコシバンムシ(*Lasioderma serricirne*)の歯科診療室における生息状況調査を実施し、あわせてその昆虫が保有する薬剤耐性菌の有無についてもPCR法で調べた。今回の調査では一般家庭の台所よりもタバコシバンムシが多く捕集された歯科診療所が多く見受けられた。診療のない夜間や休日には冷房も切れてタバコシバンムシの生息しやすい環境になるのかもしれない。また昨年の夏のタバコシバンムシの捕集数が増加していたのは、記録的な猛暑が影響したのかもしれない。

今回、捕集したタバコシバンムシからは院内感染対策で問題となるような薬剤耐性菌は検出されず、タバコシバンムシの歯科医院での薬剤耐性菌伝搬への関わりは低いかもしれない。

アンケート調査の結果からは、タバコシバンムシそのものの認知度は低かったが、歯科医院におけるこのタバコシバンムシ生息状況調査については関心が高かった。やはり近年の身近な話題である地球温暖化の影響によるものと思われる。一方で屋内害虫対策にはあまり差し迫った病害性などが感じられないためか、積極的な駆除や対策などは講じられていないようだった。

歯科医療環境整備には日頃から十分に心がけていると思うが、目視確認だけではなかなか行き届かないところもあり、今回の

タバコシバンムシ調査が何らかの一助になればと思う。アンケート調査の結果から次のタバコシバンムシ生息状況調査にはほとんどの歯科医院の協力が得られそうで、歯科医院における医療環境調査、また清掃度のひとつの指標として院内感染対策に繋げることができるように今後も研究を進めたい。

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」「全国における院内感染対策研修会開催システムの構築および院内感染対策普及のための書籍作成」「ATP法による院内環境汚染状況の測定システムの構築」「歯科医療における院内感染対策普及のためのシンポジウムの開催」

1) 標準化された院内感染対策の評価指標を歯科医師への導入するためのプログラムの作成

都道府県単位で行われる歯科医師会主催研修会の効果が院内感染対策の普及および自院での HIV 感染者の歯科医療行為に現れることが明らかとなった。その効果は、自分の歯科医院に積極的に投資できる歯科医師および卒業年度が近年である歯科医師に強く現れることが明らかとなった。

2) 全国における院内感染対策研修会開催システムの構築および院内感染対策普及のための書籍作成

現在進行中であるため考察に準ずる。

3) ATP法による院内環境汚染状況の測定システムの構築

ATP法は、院内汚染状況および汚染除去の効果を評価するために有用であることが明らかとなった。

4) 歯科医療における院内感染対策普及のためのシンポジウムの開催

院内感染対策を推進する担当者を集めた定期的な院内感染対策に関するシンポジウムや連絡会議が必要であることが明らかとなった。

「給水汚染防止システムを取り入れたデンタルチェアユニットの微生物汚染除去システムの開発」

1. H₂O₂を使用したクリーンシステムは 63 ヶ月間、微酸性電解水を使用したクリーンシステムは 43 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. 過炭酸ナトリウムを主成分とする DUWL 洗浄消毒用試作薬剤は、濃度および作用時間を調整することにより、DUWL 由来の菌に殺菌効果を示した。

3. 過炭酸ナトリウムを主成分とする DUWL 洗浄消毒用試作薬剤は、濃度を調整することにより、長時間浸漬しても真鍮 (C 3 6 0 4 B D) 製金属部材に影響を与えない。

4. 試作薬剤のみの作用では残存した *Methylobacterium* には、塩化ベンザルコニウムを混合することにより、殺菌効果の増強が認められた。

「病院歯科における院内感染対策促進のための科学的な評価指標の分析」

分子生物学的手法 (LAMP 法ならびに PCR 法) を応用した VRE 検出法の特性を評価した。LAMP 法は迅速性が要求される場合の口

腔細菌検査に有用である可能性が示された。

「評価指標を利用した院内感染対策促進
のための細菌学的検査の確立」
-歯科医療環境におけるタバコシバンムシ
の生息状況調査-

今回の調査では歯科診療所からもタバコシバンムシが捕集されたが、院内感染対策で問題となる薬剤耐性菌は検出されなかった。地球温暖化また節電、猛暑などの影響で国内でも病害昆虫も発生が懸念されている。歯科医療環境におけるタバコシバンムシ生息状況調査を清掃度のひとつの指標として歯科医療環境整備や院内感染対策に繋げることができるように検討してゆきたい。

E. 研究成果発表

論文発表

1. Ryoma Nakao, Shogo Takashiba, Saori Kosonoc, Minoru Yoshida, Haruo Watanabe, Makoto Ohnishi, Hidenobu Senpuku. Effect of *Porphyromonas gingivalis* outer membrane vesicles on gingipain mediated detachment of cultured oral epithelial cells and immune responses. *Microbes and Infection*. 16: 6-16, 2014.
2. Akio Tada, Masaomi Nakamura, Hidenobu Senpuku. Factors influencing compliance with infection control practice in Japanese dentists. *The International Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 5: 24-31, 2014
3. 小澤寿子, 中野雅子, 木村泰子, 新井 高, 歯科、用チェア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.

4. Ebinuma T, Soga Y, Sato T, Matsunaga K, Kudo C, Maeda H, Maeda Y, Tanimoto M, Takashiba S. Distribution of oral mucosal bacteria with *mecA* in Patients undergoing hematopoietic cell transplantation. *Supportive Care in Cancer*, in press.
5. Shimoe M, Yamamoto T, Shiomi N, Tomikawa K, Hongo S, Yamashiro K, Yamaguchi T, Maeda H, Takashiba S. Overexpression of Smad2 Inhibits Proliferation of Gingival Epithelial Cells. *J Periodont Res*, in press.
6. Hirai K, Maeda H, Omori K, Yamamoto T, Koikeguchi S, Takashiba S. Serum antibody response to group II chaperonin from *Methanobrevibacter oralis* and human chaperonin CCT. *Pathog Dis*, 68: 12-19, 2013.
7. Sato T, Soga Y, Yamaguchi T, Meguro M, Maeda H, Tada J, Otani T, Seno M, Takashiba S. Cytokine expression in human dermal fibroblasts stimulated with eosinophilcationic protein measured by protein array. *Asian Pac J Allergy Immunol*, 31: 271-276, 2013.
8. 目黒道生, 富山祐佳, 小出康史, 小林芳友, 小林直樹, 藤原ゆみ, 岩田宏隆, 苅田典子, 久保克行, 佐藤公磨, 山部こころ, 山本大介, 澤田弘一, 高柴正悟, 松尾浩一郎. 高齢者病棟および高齢者施設における歯科医療職の人材配置. *老年歯科医学* 28: 79-87, 2013.

9. 渡辺朱理, 佐藤法仁, 高久悟, 苔口進:
日米の歯科衛生士養成課程における感
染予防教育の比較 質問紙法による認
識度と習熟度の検討 - .日本歯科衛生教
育学会雑誌 4巻, 1号, 41-48, 2013
年5月.
10. Maeda H, Hirai K, Mineshiba J,
Yamamoto T, Kokeguchi S, Takashiba S.:
Medical microbiological approach to
Archaea in oral infectious diseases.
Japanese Dental Science Review. Vol.49:
72-78, 2013.
11. Hagiya H, Onishi N, Ebara H, Hanayama
Y, Kokeguchi S, Nose M, Kusano N,
Otsuka F. Disseminated gonococcal
infection in an elderly Japanese man. Intern
Med. Vol.52(23): 2669-2673, 2013.
12. Hirai K, Maeda H, Omori K, Yamamoto T,
Kokeguchi S, Takashiba S. Serum antibody
response to group II chaperonin from
Methanobrevibacter oralis and human
chaperonin CCT. Pathog Dis.
Vol.68(1):12-19, 2013.
13. Soko S, Kariyama R, Mitsuahata R,
Yamamoto M, Wada K, Ishii A, Uehara S,
Kokeguchi S, Kusano N, Kumon H.
Molecular Epidemiology and Clinical
Implications of Metallo- β -Lactamase-
Producing *Pseudomonas aeruginosa*
Isolated from Urine. Acta Medica
Okayama. 2014(*in press*).
14. 佐藤法仁: シリーズ院内感染対策塾
第7回病原微生物(1)肝炎ウイルス.
ZOOM UP, 137, 34-35, 2013年8月.
15. 佐藤法仁: シリーズ院内感染対策塾
第8回病原微生物(2)麻疹、風疹.ZOOM
UP, 138, 32-33, 2014年2月.
16. 佐藤法仁: 感染制御学ノート vol.16
インフルエンザウイルス 後編.DH
style, 7巻, 4号, 12-17, 2013
年4月.
17. 佐藤法仁: 感染制御学ノート vol.17
水痘・带状疱疹ウイルス.DH style, 7
巻, 5号, 12-17, 2013年5月.
18. 佐藤法仁: 感染制御学ノート vol.18
百日咳菌.DH style, 7巻, 6号,
12-15, 2013年6月.
19. 佐藤法仁: 感染制御学ノート vol.19
コクサッキーウイルス.DH style, 7
巻, 7号, 12-15, 2013年7月.
20. 佐藤法仁: 感染制御学ノート vol.20
アデノウイルス.DH style, 7巻, 8
号, 12-15, 2013年8月.
21. 佐藤法仁: 感染制御学ノート vol.21
RSウイルス.DH style, 7巻, 9号,
12-15, 2013年9月.
22. 佐藤法仁: 感染制御学ノート vol.22
マイコプラズマ.DH style, 7巻, 11
号, 10-13, 2013年10月.
23. 佐藤法仁: 感染制御学ノート vol.23
リケッチア(前編), 7巻, 12号,
12-15, 2013年11月.
24. 佐藤法仁: 感染制御学ノート vol.24
リケッチア(後編).DH style, 7巻,
13号, 16-18, 2013年12月.
25. 佐藤法仁: 感染制御学ノート vol.25
クラミジア(前編).DH style, 8巻,
1号, 12-14, 2014年1月.
26. 佐藤法仁: 感染制御学ノート vol.26.
クラミジア(後編).DH style, 8巻,
2号, 12-15, 2014年2月.

学会発表

- 1 . Akio Tada, Hidenobu Senpuku. Factors influencing compliance with infection control practice in Japanese dentists, IADR Asia/Pacific Region (APR) Regional Meeting and Co-Annual Scientific Meeting of IADR Divisions (August 21-23, 2013), Bangkok, Thailand.
- 2 . Motegi Mizuho, Hideo Yonezawa, Hidenobu Senpuku. Roles of genes to aggregation and biofilm formation in the *Streptococcus mutans*. Eurobiofilms 2013, Ghent, Belgium, 9 - 12 September 2013
- 3 . Toshiaki Arai, Yoji Saeki, Shota Mohri, Kuniyasu Ochiai, Hidenobu Senpuku, Effects of extract from potherb mustard on the biofilm formation of *Actinomyces naeslundii*. Eurobiofilms 2013, Ghent, Belgium, 9 - 12 September 2013
- 4 . Masanori IKENO, Masako NAKANO, Ayuko TAKAO, Toshiko OZAWA, Noriyasu HOSOYA, Nobuko MAEDA, Effect of new disinfectant to biofilm in dental-unit-water-line FDI2013 Annual World Dental Congress 2013.8.28-31
- 5 . 池野正典, 中野雅子, 小澤寿子、歯科診療用水回路に対する試作薬剤による殺菌効果の検討 - 第1報-、第28回日本環境感染学会 2013.3.1-2
- 6 . Nakano Masako, Takao Ayuko*, Ikeno Masanori, Ozawa Toshiko, Maeda Nobuko、The Disinfectant Effect of slightly acidic electrolyzed water on *Enterococcus faealis*、FDI 2012 Annual World Dental Congress, Hong Kong Convention and Exhibition Centre, Hong Kong, 2012.8.29-9.1.
- 7 . 池野正典, 中野雅子, 高尾亞由子, 小澤寿子, 前田伸子, 細矢哲康、微酸性電解水の *Enterococcus faealis* に対する殺菌効果、第136回日本歯科保存学会 2012年度春季学術大会 2012.6.28-29
- 8 . 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
- 9 . 中野雅子, 高尾亞由子, 前田伸子、微酸性電解水のチェア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
- 10 . Toshiko Ozawa, Masako Nakano, Masanori Ikeno, Takashi Arai, Evaluation of slightly acidic electrolyzed water on dental chair unit water lines, FDI 2011 Annual World Dental Congress, Centro BANAMEX conventional and Exhibition Centre, Mexico City, 2011.9.14-17.
- 11 . Nakano Masako, Takao Ayuko*, Ozawa Toshiko, Ikeno Masanori, Maeda Nobuko*, Arai Takashi, Effect of slightly acidic electrolyzed water on bacteria from dental unit water, FDI 2011 Annual World Dental Congress, Centro BANAMEX conventional and Exhibition Centre, Mexico City, 2011.9.14-17.
- 12 . 池野正典, 中野雅子, 小澤寿子, 黒瀬慎太郎, 新井高、微酸性電解水の歯科用チェアユニット水回路の細菌汚染防止への有効性、第12回口腔機能水学会学術大会 2011.7.30.31
- 13 . 黒瀬慎太郎 池野正典 中野雅子 小澤寿子、クリーンシステム搭載歯科用

- チェアユニットの開発と評価、鶴見歯学会第73回例会 2011.6.25
14. 池野正典, 中野雅子, 小澤寿子, 黒瀬慎太郎, 新井 高、歯科用チェアユニット水回路への微酸性電解水供給システムの評価、第134回日本歯科保存学会2011年度春季学術大会 2011.6.9-10
15. 中野雅子, 高尾亞由子, 小澤寿子, 池野正典, 前田伸子, 新井 高、歯科用チェアユニット水回路より分離した従属栄養細菌に対する微酸性電解水の有効性、第134回日本歯科保存学会2011年度春季学術大会 2011.6.9-10
16. 松永一幸, 工藤値英子, 河田有祐, 前田博史, 高柴正悟. T-RFLP法による高感度な細菌叢解析法確立のためのPilot Study. 日本歯科保存学会2013年度春季学術大会, 2013, 日本, 福岡, 6/27/2013~6/28/2013.
17. 平井公人, 前田博史, 山城圭介, 大森一弘, 峯柴淳二, 山本直史, 苔口 進, 高柴正悟. *Methanobrevibacter oralis* およびヒトのグループ II シャペロニンに対する免疫応答の解析. 第56回春季日本歯周病学会学術大会 2013, 日本, 東京, 5/31/2013~6/1/2013.
18. 松永一幸, 工藤値英子, 河田有祐, 前田博史, 高柴正悟. DNA normalization を用いた細菌叢解析法確立のためのPilot study. 第6回日本口腔検査学会総会・学術大会, 2013, 日本, 鶴見, 9/15/2013.
19. 大久保 圭祐, 河田 有祐, 伊東孝, 塩田 康祥, 松永 一幸, 前田 博史, 高柴 正悟. 歯科用ユニット給水管路 (DUWL) の微生物汚染とその防止. 第34回岡山歯学会総会, 2013, 日本, 岡山, 10/27/2013.
20. 塩田康祥, 伊東孝, 工藤値英子, 高柴正悟. 海藻由来レクチンによる口腔感染制御能を有した機能性食品の開発. 第20回日本未病システム学会学術総会, 2013, 日本, 東京, 11/9/2013~11/10/2013.
21. Watanabe A, Koikeguchi S. Bacterial Contamination of Dental Units used by Dental Hygiene Students. IADR Asia/Pacific Region (APR) Regional Meeting and Co-Annual Scientific Meeting of IADR Divisions. (Bangkok, Thailand) August, 2013.
22. Tamaki N, Koikeguchi S: Salivary Antioxidant Activity, Cytokines and Periodontitis: The Nagasaki Islands Study. IADR Asia/Pacific Region (APR) Regional Meeting and Co-Annual Scientific Meeting of IADR Divisions. (Bangkok, Thailand) August, 2013.
23. 渡辺朱理, 高久悟, 佐藤法仁, 苔口進: 歯科医院におけるタバコシバンムシの生息状況調査. 日本歯科衛生学会第8回学術大会 (兵庫県、神戸市) 2013年9月.
24. 横田憲治、渡邊都貴子、苔口進、林俊治、平井義一: 病院内の環境細菌調査. 第29回日本環境感染学会総会・学術大会 (東京都、港区) 2014年2月.
25. 渡辺朱理, 佐藤法仁, 苔口進: 歯科医療環境におけるタバコシバンムシ生息実態調査からの検討. 第29回日本環境感染学会総会・学術大会 (東京都,

港区) 2014年2月 .

F . 知的財産権の出願・登録状況

特になし

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

(H24-医療-指定-004)

「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」

「全国における院内感染対策研修会開催システムの構築および院内感染対策普及のための書籍作成」

「ATP法による院内環境汚染状況の測定システムの構築」

「歯科医療における院内感染対策普及のためのシンポジウムの開催」

研究代表者：泉福英信（国立感染症研究所・細菌第一部・室長）

研究協力者：小森康雄（東京医科大学・口腔外科学・非常勤講師）

研究協力者：米田早織（奥羽大学歯学部・微生物学・助教）

研究協力者：北川善政（北海道大学大学院歯学研究科 教授）

研究協力者：佐藤淳（北海道大学大学院歯学研究科 助教）

研究協力者：秋野憲一（北海道保健福祉部福祉局高齢者保健福祉課 主任技師）

研究協力者：永易裕樹（北海道医療大学歯学部 教授）

研究協力者：齊藤正人（北海道医療大学歯学部 教授）

研究協力者：池田和博（北海道医療大学歯学部 准教授）

研究協力者：佐々木健（北海道保健福祉部健康安全局地域保健課 医療参事）

研究協力者：鳥谷部純行（医療法人回生会大西病院 歯科口腔外科部長）

研究協力者：後藤衛（後藤歯科医院 院長）

研究協力者：榊原典幸（医療法人母恋日鋼記念病院 歯科口腔外科）

研究協力者：宮田泰（愛知県歯科医師会 理事）

研究協力者：鈴木治仁（鈴木歯科クリニック 院長）

研究協力者：筑丸寛（北海道大学大学院歯学研究科 助教）

研究協力者：岩淵博史（国立病院機構栃木病院・口腔外科・医長）

研究協力者：井上一彦（鶴見大学歯学部・探索歯学講座・非常勤講師）

研究要旨：歯科医療は、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。現在までの厚生労働科学研究班の研究成果により、一般歯科医院の院内感染対策は不十分であることが明らかとなった。そのため、現在までの研究成果により構築された院内感染防止プログラムをさらに発展させ、いかに普及させていくかが研究課題である。

HIV感染者の歯科診療ネットワークづくりが行われている各都道府県歯科医師会所属歯科医師を対象とするアンケート調査を比較して、院内感染対策を普及するためにどのようなシステム作りをすればよいか検討を行った。その結果、行政の取り組みにいち早く反応して、積極的に院内感染対策に投資する歯科医師程、自分の医院でHIV感染者の歯科治療を行える歯科医師の比率が高いことが明らかとなった。卒業年度が近年であ

ればあるほど、HIV 感染者の歯科治療を自院で受け入れる意識が高いことも明らかとなった。また、各都道府県の歯科医師会所属院内感染対策普及ならびに HIV 感染者の歯科治療を行うネットワーク事業の担当者を集めシンポジウム開催および書籍の発行の準備を進めた。その結果、各地区で行っている事業の成果や研究事業の成果を合わせて討論する機会や連携する機会をつくることが重要であることが明らかとなった。院内環境の汚染を瞬時に評価できるシステム作りを行うために、ATP 法を利用した評価法の検討を行った。その結果、ATP 法がその評価に有用であることが明らかとなった。ホームページ、書籍などを利用した研究成果の情報発信、シンポジウム、各都道府県歯科医師会との連絡会議の開催、講師育成研修会の開催、研修、実習システムの整備などの活動が今後とも重要であることが明らかとなった。

A. 目的

平成 21 年度に起こった新型インフルエンザパンデミック、22 年度は多剤耐性菌による院内感染等、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られた。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%前後と低かった。しかし、平成 21 年度の継続研究事業では 10～15%のその理解率の上昇が認められ、平成 19 年には医療法の一部が改正や各県の歯科医師会の取り組み、本研究班における研究成果の公開等の一定の成果が見られるようになってきた。一方、HIV 患者を自分の歯科医院にて歯科治療を受け入れる歯科医師は、某県において平成 18 年度 20.5%から平成 22 年度で 17.3%と上昇しておらず、HIV という特

殊な感染症とはいえ、現在右肩上がり で急上昇中の HIV 感染患者の歯科治療に対する意識改革が進んでいないのが現状である。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。我々の研究活動では、将来できうる院内感染対策 11 項目を確立することができた(図 1)。それらの中で、手袋、防護用眼鏡の着用以外に院内感染対策の講習会への参加、院内感染対策のスタッフへの教育とスタッフへの B 型肝炎ワクチン接種が比較的容易に 1 年以内に達成できる項目であった。これらを重要課題とし、意識、行動に一番影響を与えていた患者ごとのタービンヘッドの交換を次に導入すべき最重要課題であることが明らかになった。

本年度の研究課題は昨年度と同様に、構築された院内感染防止プログラムをさらに発展させていかに普及させていくかである。各都道府県歯科医師会では HIV 感染者の歯科治療に対する取り組みを各都道府県の行政とともにやっている。行う度合いは各都道府県によって異なるが、HIV 感染者の歯科治療をスムーズに取り

組めるようにしている。これらの取組みは、各都道府県歯科医師会が独自に作成したプログラムを基に行っているためその効果の違いを参考にすることによって、普及システムの構築を検討することができる。某 F 県歯科医師会は、各地区での研修会を積極的に行い HIV 感染者の歯科治療ができる研修システムを構築している。この県歯科医師会の会員に対していままでの本研究事業と同じアンケート調査を行い、どのような効果の違いがあるか検討することによって、普及方法を検討できると考えた。そこで、某 F 県でのアンケート調査を行った。また研修会の開催システム構築、院内感染対策の書籍化を検討した。1 年以内に実現することが困難であるという項目の中に院内環境の汚染検査がある。我々の研究事業では、院内環境の汚染を簡単に測定する手段として ATP 法を利用する汚染検査法を確立した。この ATP 法の活用に関して、実際に一般歯科医院の歯科医師に使用してもらいどのような結果が現れるか検討を行った。

これらの成果を総合的に検討し、研究期間内で院内感染対策普及プログラムを検討していくことを目的とする。

B. 方法

1) 標準化された院内感染対策の評価指標を歯科医師への導入するためのプログラムの作成

院内感染対策および HIV 感染者の歯科治療を積極的に行える研修システムを構築している某 F 県の歯科医師会でアンケート調査を行うことにした。そ

の結果を本研究事業で 1 年おきにアンケート調査を行っている某 A 県での結果と比較することによって、どのような普及方法が有効であるか検討することを行った(図 2)。国立感染症研究所における倫理委員会においてヒトにおける疫学研究の申請を行い、承認後、某 A 県で行ったアンケート調査を某 F 県で行った。

2) 全国における院内感染対策研修会開催システムの構築および院内感染対策

研修会の開催システム構築に関しては、日本歯科医師会や厚生労働省および各自治体で行う医療安全に関する事業について、我々の研究成果が生かせないか検討をお願いした。特に院内感染対策の研修を行う講師育成の重要性について検討をお願いした。

多くの歯科医師の目に留まる機会を増やすために、院内感染対策の書籍化を検討した。2 部構成にし、第 1 部を医療安全、第 2 部を院内感染対策とし、1 部を 2 項目、2 部を 10 項目にしそれぞれの項目を協力研究者含む専門家に執筆をお願いした(別紙 1)。

3) ATP 法による院内環境汚染状況の測定システムの構築

国立感染症研究所の倫理委員会へ提出し審査を行った(別紙 2) 詳しい計画書は別紙に記載する(別紙 3)。1. 対象者 全国の歯科診療施設 20 施設
2. 研究方法: 一般の診療をしている 20 歯科医院において受付、作業台、ユニット周り、

診療器具，印象，消毒コーナ等 40 か所でデータを収集した。ATP 法は KIKKOMAN LUMITESTER PD-10N[®]を用いて，ATP 値を算出した。院内感染対策を実施していない歯科診療施設と実施済みの歯科診療施設のデータを比較検討した。また，院内感染対策を実施していなかった歯科診療施設において，院内感染対策実施前と院内感染対策実施後（機能水使用）でデータを比較検討した。解析は，統計解析法；エクセル統計 Ver.6 にて行った。

4) 歯科医療における院内感染対策普及のためのシンポジウムの開催

平成 26 年 3 月 2 日、厚生科学研究班会議を兼ねて院内感染対策普及のための公開シンポジウムを開催した。プログラムを別紙に記す（別紙 4）。4 の都道府県から院内感染対策の普及および HIV 感染者の歯科治療ネットワークづくりについて講演をしていただいた。総合討論の場を設け、意見交換を行った。

C, 結果

1) 標準化された院内感染対策の評価指標を歯科医師への導入するためのプログラムの作成

国立感染症研究所のヒトを対象とする医学研究倫理審査において承認（平成 26 年 1 月 8 日、受付番号 477）を受け研究をスタートした。某 F 県にて、1 年おきに某 A 県で行っているアンケート調査（別紙 5）と同じものを利用してアンケート調査を行った。3152 の歯科医療機関に発送して、891 通回答が返却された。よって、回答率は 28.3%であった（図 3）。某 A 県よりも回答率は高かった。男女比は、男性 94.4%、女

性 5.6%で某 A 県よりも女性の比率が低かった（図 4）。年齢で 4 つのグループに分け、それらグループの総人数に対する割合を算出した。その結果、39 歳以下と 40 歳以上 49 歳以下の歯科医師の比率が某 A 県よりも高かった（図 5）。反対に 60 歳以上の歯科医師が低い比率であった。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思がある歯科医師の割合は、31.1%と某 A 県の平成 24 年度のデータと比較して約 10%も高い数値となった（図 6）。他の歯科診療所で HIV 感染者の歯科治療を受け入れる意思があるか聞いてみると、意思があると答えた歯科医療機関は 34.5%で、某 A 県よりも低い比率となった（図 7）。HIV 感染患者の歯科治療を実際に行っているか質問すると、行っていると答えた歯科医療機関は 6.0%で、某 A 県と違いがなかった（図 8）。HIV 感染者に対する歯科治療拒否はモラル的によくないと思うか質問を行うと、モラル的によくないと思う歯科医療機関が 64.0%で某 A 県よりも若干低かった（図 9）。HIV 感染患者の歯科治療を自分の診療所で行うことにより、他の患者が来なくなる恐れがあると思いますかという質問に対して、思うと答えた歯科医療機関は 59.9%と某 A 県よりも若干低かった（図 10）。知識の項目で、スタンダードプレコーションを理解しているか質問をすると、37.7%で某 A 県の平成 24 年度 34.6%よりも若干高い比率となった（図 11）。防護用メガネの着用に関しては、33.5%で平成 24 年度の某 A 県よりも若干低かった（図 12）。グローブの着用は、75.7%で某 A 県と違いがなかった（図 13）。患者ごとのハンドピースの交換において、必ず交換する歯科医療機関は 33.7%で、某 A 県

よりも若干高かった(図 14)。感染対策をスタッフに教育しているかという質問に対して、教育している歯科医療機関は 88.8%で某 A 県よりも高かった(図 15)。感染予防対策マニュアルの作成についても某 A 県よりも高かった(図 16)。研修会への参加比率は、69.2%で、某 A 県と差がなかった(図 17)。歯科医師は B 型肝炎ワクチンを受けていますかという質問には各年度とも 63.5%の歯科医師が受けているという回答を行ったが某 A 県よりも低かった(図 18)。

HIV 感染者を自分の診療室で歯科治療を行える歯科医師の比率が某 A 県よりも 10%も高いことが某 F 県歯科医師の大きな特徴と考えた。そこで、治療を行えるグループと行えないグループに分けて様々な質問項目に対する答えの差の検討を行った。まずはじめに、卒業年度を 5 つのグループに分けてその差の検討を行った。その結果、卒業年度が平成 8 年以降と昭和 61 年～平成 7 年のグループで、HIV 感染者を自分の診療室で歯科治療を行える歯科医師の比率が行えない歯科医師の比率よりも高いことが明らかとなった(図 19)。逆に、昭和 60 年以前の 3 つのグループで行える歯科医師が行えない歯科医師よりも低い結果となった。

スタンダードプレコーションの理解率は、行える歯科医師が行えない歯科医師よりも約 20%程度高い結果となった(図 22)。逆に理解していない歯科医師の比率は、行える歯科医師が行えない歯科医師よりも約 30%程度低い結果となった(図 20)。

近年の教育を受けた歯科医師がより HIV 感染者を自分の診療室で歯科治療を行えることが明らかとなった。その他の質問項目で患者ごとのハンドピースの交換などいず

れの項目も行える歯科医師が行えない歯科医師よりも高い結果となった(図 21)。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、この中に口腔外バキュームもその要件として加えられましたが、これにより口腔外バキュームを設置しましたか? という質問において興味深い結果となった。1:新たに設置した、2:設置を考えていると答えた歯科医師において、HIV 感染者の歯科治療を行える歯科医師が行えない歯科医師よりも高い結果となった(図 22)。HIV 感染者の歯科治療を行える歯科医師は、行政の取り組みにいち早く反応して投資していることが明らかとなった。感染対策費用として、患者一人当たりはいくらぐらいまでならかけられますか? という質問に対して、100 円、200 円、400 円と高く投資できる歯科医師の比率において、行える歯科医師が行えない歯科医師よりも高い結果となった(図 23)。

2) 全国における院内感染対策研修会開催システムの構築および院内感染対策普及のための書籍作成

院内感染対策の講師育成のための研修会開催のシステムの構築を要望しているところである。また書籍に関しては、現在、執筆を進めている最中である。3月31日原稿締め切り、6月発刊の予定である(歯科ヒョーロン社発行)。

3) ATP 法による院内環境汚染状況の測定システムの構築

国立感染症研究所倫理委員会に申請をしたが、ヒトを対象とする医学研究倫理に該当しないという返答を得た(平成 26 年 7

月 8 日、受付番号 424)。国立感染症研究所の倫理委員会の結果を受け研究をスタートした。ATP 法による結果、院内感染指針指導前では、ユニット周辺の取っ手部分で約 3000 ~ 5000RLU、パネルスイッチ部分で約 10000 ~ 15000RLU の値を示し、かなり汚染されていた。その後、機能水を使用した院内感染対策指導を徹底して行い、2 週間後に再度 ATP 法によるふき取り検査を行ったところ、ユニット周りや診療器具で改善が確認された (図 24, mean ± SE, A 歯科 : 指導前 4866RLU, 指導後 706RLU, B 歯科 : 指導前 2758RLU, 指導後 238, c 歯科 : 指導前 6797RLU, 指導後 386RLU, 有意差有 $p < 0.05$, t 検定)。

4) 歯科医療における院内感染対策普及のためのシンポジウムの開催

外部から 17 名の参加、発表者を含む内部関係者を合わせると 28 名の参加があり、班会議およびシンポジウムを行うことができた。我々の研究成果について、勉強になったという外部からの意見をいただいた一方、このような各研究成果や各都道府県の取り込みについて意見交換をする場があることはとても重要であるという意見が出された。定期的な連絡を取れるネットワークがあることが必要ではないかという意見が出た。厚生科学研究成果を含め、各都道府県で院内感染対策推進事業あるいは HIV 感染者の歯科治療ネットワーク構築事業を行っている担当者が意見交換、情報の共有ができる連絡会をつくることが重要と考えられた。

D . 考察

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

某 F 県における積極的な研修会の開催により HIV 感染者の歯科治療を自分の歯科診療室で受け入れる歯科医師の比率が某 A 県よりも約 10% 高いことが明らかとなった。また、感染対策のスタッフへの教育と院内感染対策のマニュアル作成において、F 県は A 県よりも高い数値を示した。一方、B 型肝炎ワクチンの接種率において F 県は A 県よりも低い結果となった。また、スタンダードプレコーションの理解率、患者ごとのハンドピースの交換などの院内感染対策の重要とされる項目に大きな違いがなかった。某 A 県も積極的に研修会の開催、実習等を行っている。なぜこのような差がでたのか？これは、某 F 県の研修システムが効果を現した可能性がある。特に HIV 感染者の歯科治療について、徹底とした教育を行ってきた効果が現われた可能性がある。一方、某 F 県卒業年度が近年の歯科医師が某 A 県よりも比較的に多いこと。某 A 県は、歯科医師会会員が多く、研修会を開催の効果はすべての会員に行きわたりにくいこともこのような差が生まれた原因かもしれない。

F 県において自院で HIV 患者を歯科治療できる歯科医師が多いことに着目して、治療できる歯科医師と治療できない歯科医師とにグループ分けをして、各質問項目の回答の差の検討を行った。まず卒業年度について検討すると、治療できる歯科医師は明らかに卒業年度が近年であることが明らかとなった。またスタンダードプレコーションの理解率も高く、患者ごとのハンドピー

スの交換、これらの結果は F 県における研修会への参加、口腔外バキュームの設置など、多くの院内感染対策に関わる重要な項目を行っている比率が高いことが明らかとなった。研修会の効果が現われていることが推測できる。さらに、平成 20 年度 4 月の診療報酬改定で外来診療体制加算が算定できるようになり、この中に口腔外バキューム設置も要件として加えられたのを受けて新たに設置した歯科医師と設置を考えている歯科医師の比率が高いことも明らかとなった。行政の取り組みに反応して、自院に投資をする歯科医師が、自院で HIV 患者の歯科治療を受け入れることが明らかとなった。それは次の質問に対する回答でも伺えた。患者一人あたりいくらぐらい投資ができるかの質問に対する回答で、高額な金額を回答した歯科医師の比率が、自院で HIV 感染者の歯科治療を受け入れる歯科医師において高かった。口外バキュームのような投資を促すような院内感染対策に対する対策が有効化もしれない。

2) 全国における院内感染対策研修会開催システムの構築および院内感染対策普及のための書籍作成

現在進行中であるため、特になし。

3) ATP 法による院内環境汚染状況の測定システムの構築

安全で汎用性のある強酸性電解水を使用し、院内感染対策の指導を行った結果、歯科医院の衛生管理は向上した。また、安価で迅速な ATP 法を用いて各診療所で定期的に継続してモニタリングを行うことは感染対策には有用であり、motivation を含めて

院内感染指針に基づく指導が徹底される必要性が改めて示唆された。また、迅速かつ安価な ATP 法は汚染状況を把握するために有用であることが明らかになった。

5) 歯科医療における院内感染対策普及のためのシンポジウムの開催

各歯科医師会院内感染対策普及および HIV 感染者の歯科治療ネットワーク作りの担当者との交流が重要であることが明らかとなった。その取り組みの成果ならびに本研究班の成果を合わせた意見交換が必要であることも明らかとなった。

E . 結論

1) 標準化された院内感染対策の評価指標を歯科医師への導入するためのプログラムの作成

都道府県単位で行われる歯科医師会主催研修会の効果が院内感染対策の普及および自院での HIV 感染者の歯科医療行為に現れることが明らかとなった。その効果は、自分の歯科医院に積極的に投資できる歯科医師および卒業年度が近年である歯科医師に強く現れることが明らかとなった。

2) 全国における院内感染対策研修会開催システムの構築および院内感染対策普及のための書籍作成

現在進行中であるため考察に準ずる。

3) ATP 法による院内環境汚染状況の測定システムの構築

ATP 法は、院内汚染状況および汚染除去の効果を評価するために有用であることが明らかとなった。

4) 歯科医療における院内感染対策普及のためのシンポジウムの開催

院内感染対策を推進する担当者を集めた定期的な院内感染対策に関するシンポジウムや連絡会議が必要であることが明らかとなった。

F. 研究成果発表

論文発表

1. Ryoma Nakao, Shogo Takashiba, Saori Kosonoc, Minoru Yoshida, Haruo Watanabe, Makoto Ohnishi, **Hidenobu Senpuku**. Effect of *Porphyromonas gingivalis* outer membrane vesicles on gingipain mediated detachment of cultured oral epithelial cells and immune responses. **Microbes and Infection**. 16: 6-16.
2. Akio Tada, Masaomi Nakamura, Hidenobu Senpuku. Factors influencing compliance with infection control practice in Japanese dentists. The International Journal of Occupational and Environmental Medicine, 5: 24-31, 2014

学会発表

1. Akio Tada, Hidenobu Senpuku. Factors influencing compliance with infection control practice in Japanese dentists, IADR Asia/Pacific Region (APR) Regional Meeting and Co-Annual Scientific Meeting of IADR Divisions (August 21-23, 2013), Bangkok, Thailand.
2. Motegi Mizuho, Hideo Yonezawa, Hidenobu Senpuku. Roles of genes to aggregation and biofilm formation in the *Streptococcus mutans*. Eurobiofilms 2013, Ghent, Belgium, 9 - 12 September 2013
3. Toshiaki Arai, Yoji Saeki, Shota Mohri, Kuniyasu Ochiai, Hidenobu Senpuku, Effects of extract from potherb mustard on the biofilm formation of *Actinomyces naeslundii*. Eurobiofilms 2013, Ghent, Belgium, 9 - 12 September 2013

- G. 知的財産権の出願・登録状況
特になし

平成 25 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）

歯科医療における効果的な院内感染対策の促進に関する研究

（H24-医療-指定-044）

分担研究報告書

「給水汚染防止システムを取り入れたデンタルチェアユニットの微生物汚染除去システムの開発」

研究分担者：小澤寿子（鶴見大学歯学部・歯内療法学講座・講師）

研究協力者：長谷川（中野）雅子（鶴見大学歯学部・歯内療法学講座・助教）

高尾亜由子（鶴見大学歯学部・口腔微生物学講座・助教）

池野正典（鶴見大学歯学部・口腔微生物学講座）

研究要旨

歯科用チェアユニットの給水管路（DUWL）のバイオフィーム形成と水汚染の対策として、鶴見大学歯学部附属病院に 2008 年に設置された過酸化水素水による新しい水回路クリーンシステム搭載の歯科用チェアユニット、および DUWL に微酸性電解水を流入して診療に使用できる歯科用チェアユニット（2010 年試作開発）の有効性について、昨年度に引き続き評価した。

2 種類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、これらの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明らかとなった。

さらに DUWL 用の洗浄消毒剤の開発のため、使用可能な有効薬剤の選定を行い、試作薬剤を含む数種類について DUWL 由来の菌への殺菌効果と DUWL 部材の金属への影響について評価した。

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微生物学的汚染度は高く、 $10^4 \sim 10^7$ CFU/ml に達すると報告されている。その微生物の大部分は病原性の低い従属栄養性水生細菌であるが、易感染性宿主で日和見感染症を起す可能性のある *Pseudomonas*, *Legionella*, *Mycobacterium*, *Candida* なども検出されることがある。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、直径が小さく、流量に相対して表面積が大きい、チューブ内の水には、高圧がかからない、水流の速度が壁近くでは遅い、という問題点がある。すなわち、チューブの内壁付近では水の流速は 0 に近くなり、流入する水の中には微生物が少なくても、時間経過に伴って管壁へのバイオフィーム形成が起こりやすい。この表面を水が流れる際に、微生物を巻きこみ、汚染の原因となる。

DUWL の汚染対策の基準として、米国の American Dental Association では歯科用チェアユニット水

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、日本では歯科用チェア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。

本研究では、DUWL 汚染対策として 2008 年試作された H₂O₂ 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、および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について、DUWL バイオフィーム形成抑制効果を、前年度に引き続き評価することを目的とした。さらに、形成されたバイオフィームへの対策として、また国内で開発されていない DUWL 用洗浄消毒剤を開発することを目的として、試作薬剤の殺菌効果と管路部材への影響を検討した。

B. 研究方法

1) H₂O₂ 希釈液 (1000 ppm) による自動洗浄装置を組み込んだシステムの評価

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 型、(株)モリタ社が対象である。

毎日の診療後に備え付けのタンクに入った H₂O₂ 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、H₂O₂ 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。H₂O₂ 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、チェアユニット給水元から流出する水を滅菌容器に採取した。残留塩素濃度を測定後、R2A 寒天培地上で 25、7 日間、標準寒天培地上で 37、48 時間、それぞれ塗抹培養し、コロニー数を測定した。

2) 微酸性電解水の生成供給装置を組み込んだシステムの評価

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：スペースライン™ イムシア 型、(株)モリタ社が対象である。

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。

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 回診療後、H-1、H-2、コップ給水、チェアユニット給水元から流出する水を採取して、1) と同様に残留塩素濃度と微生物学的検索を行った。

3) DUWL 用洗浄消毒剤の開発

試作薬剤の DUWL より分離された優勢菌に対する殺菌効果の検討

海外で DUWL 洗浄の使用実績があり、かつ管路

洗浄に多用される過炭酸ナトリウムを主成分とする試作薬剤についてまず検討した。前年度真鍮浸漬評価として、真鍮(C 3 6 0 4 B D)製の DUWL 部材を一定時間(10, 30, 60, 240, 480, 1440 分)浸漬して、質量変化および肉眼的観察所見により評価した結果、変化の認められなかった試作薬剤 M10 (過炭酸ナトリウム含有粉末 10g+水 300ml) を本実験に使用した。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) 排水より優勢に分離された *Sphingomonas* spp., *Mycobacterium* spp., *Methylobacterium* spp. を 96 穴平底マルチプレートに分注した R2A 培地に接種、25℃にて 5 日間培養してバイオフィームモデルとした。培養液を除去し、バイオフィーム表面を PBS にて洗浄後、被験液として試作薬剤 M10(作用時間 5, 30 分)、1.0%次亜塩素酸ナトリウム(作用時間 5 分)、滅菌蒸留水(作用時間 5 分) 150 μl を作用させた(n=5)。反応時間後に 0.5%チオ硫酸ナトリウムにて薬液を中和し、PBS 洗浄後、Alamar Blue (Invitrogen)-R2A 混合液 100 μl を添加して、室温における蛍光強度(励起波長: 530nm、蛍光検出波長: 590nm)の上昇を、生残菌量の指標とした。さらにエタノール固定後、クリスタルバイオレット染色し、吸光度(OD620nm)を残存バイオフィーム量の評価とした。

試作薬剤の DUWL チューブ内に自然発生したバイオフィームに対する殺菌効果の検討

バイオフィームの付着した DUWL チューブを長さ 5 mm に切断してエッペンチューブに入れ、試作薬剤 M10 (作用時間 5, 30 分)、1.0%次亜塩素酸ナトリウム(作用時間 5 分)、滅菌蒸留水(作用時間 5 分) 各 1ml を作用させた(n=5)。被験液除去、PBS 洗浄後、96 穴平底マルチプレート上の R2A 培地中で 25℃、14 日間培養した。培地の吸光度(OD620nm)を測定して菌の生残を評価した。

DUWL チューブ付着バイオフィーム対して試作薬剤作用後残存した菌種の同定

実験 3) - を行った後、培地から生残菌を分離、純培養し、菌 DNA から PCR により増幅した 16S rRNA 領域の配列を解析し、NCBI データベースと照合して菌種同定を行った。

試作薬剤に耐性の強い菌種に有効な薬剤の検索

水回路より分離した *Methylobacterium* spp. を R2A 培地に懸濁し、平底マイクロプレートに分注し、5 日間、室温培養した。

試作薬剤 M10 (過炭酸ナトリウム含有粉末 10g+水 300ml) と試作薬剤 M5 (過炭酸ナトリウム含有粉末 5 g+水 300ml) に、塩化ベンザルコニウム 0, 0.025%, 0.05%, 0.1%, 0.2% (最終濃度) をそれぞれ混合し、直後に使用した。

マイクロプレートから培養上清を除去して水洗後、各被験液 150 μl を添加し 5 分間作用させた。水洗後、前述と同様に、Alamar Blue の蛍光量変化により生残菌代謝量を、クリスタルバイオレット染色によりバイオフィーム量を測定した。

C. 結果

1) H₂O₂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

H-2の残留塩素濃度は低い傾向にあり、H-1、コップ給水との相違が認められた。チェア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。

H₂O₂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10³ CFU/ml レベルのコロニーが検出されたことがあったが、カップリング除去後の水質検査では検出限界以下となった。同時に標準寒天培地上で37℃、48時間の培養を行った結果、一般細菌は検出されなかった。

一方、洗浄システムから分離したH-2では、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が20ヶ月までは3.7x10² CFU/ml以下であった。その後、H-1と同様にカップリング部の汚染が認められたため、カップリング部のH₂O₂、消毒用アルコール清拭消毒、除菌フィルター交換を行ったところ、汚染は減少した。

2) 微酸性電解水の生成供給装置を組み込んだシ

システムについて

28ヶ月間、微酸性電解水を使用した管路からは10～30ppm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からはフラッシング後 10^{1-2} cfu/mlレベルのコロニーが認められることがあった。

引き続き患者への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 用洗浄消毒剤の開発

試作薬剤の DUWL より優勢に分離された菌に対する殺菌効果の検討

試作薬剤 M10 は30分作用で1%次亜塩素酸ナトリウム5分作用と同等で、3種類すべての菌のバイオフィルムの代謝活性を低下させた。バイオフィルム量は、*Mycobacterium spp.*では全ての被験液で洗浄後の減少が認められた。一方、*Sphingomonas spp.*においては、1%次亜塩素酸ナトリウムでは顕著であったが、試作薬剤 M10 では顕著ではなかった。*Methylobacterium spp.*においては、いずれの薬液の作用によっても顕著なバイオフィルム量の減少は認められなかった。

試作薬剤の DUWL チューブ内自然発生したバイオフィルムに対する殺菌効果の検討

再増殖した菌による培地 OD 値の変化で評価したところ、試作薬剤 M10 を30分作用させることにより、1%次亜塩素酸ナトリウム以上の効果が認められた。試作薬剤 M10 の5分作用では、効果は認められるものの、菌の残存が一部で認められた。

DUWL チューブ付着バイオフィルム対して試作薬剤作用後残存した菌種の同定

残存菌として分離された菌種は、*Methylobacterium aquaticum*、*Methylobacterium brachiatum*、*Mycobacterium mucogenicum*と同定された。

試作薬剤 M10 作用後、残存した菌種に有効な薬剤の検討

単独5分処理で用いた場合、試作薬剤 M10、塩化ベンザルコニウムとも *Methylobacterium* に十分な殺菌効果を示さなかったのに対し、試作薬剤 M5、M10 と塩化ベンザルコニウム 0.1%以上との併用では、水処理対照の1%以下に菌の活性が低下した。また、試作薬剤 M10 では水対照よりも菌の代謝が増強した。クリスタルバイオレットで評価したバイオフィルム量は、とくに殺菌効果の高い薬液濃度の組合せで無処理対照より高かった。

D. 考察

H₂O₂希釈液(1000 ppm)による自動洗浄装置を組込んだシステムでは、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と理由で H₂O₂ を DUWL 洗浄に選択した。このシステムについての50ヶ月間の検証で水質が維持されていることが確認されたが、カップリング部の定期的洗浄消毒や除菌フィルター交換など、定期的な管理点検が必要なことがわかった。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。16S rRNA 塩基配列解析の結果、分離されてくる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。従属栄養細菌の培養用の R2A 培地は水道法の水質管理目標でも使用が指示されている。

微酸性電解水生成装置を組込んだシステムでは、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。土曜・日曜と2日間チェアユニットを使用し

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43ヶ月間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の汚染防止、水に由来する感染の予防に有効であると考えられる。なお、本チェア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否定的な評価は得られていない。また現段階ではDUWL水への金属溶出をはじめ、水道法に定められた分析試験項目すべてにおいて水質基準をクリアしている。またチェアユニットへの機能的な障害は認められていないが、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いる。一般に市販されているチェアユニットに微酸性電解水を流すと部材が腐食しやすく、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。

一方、DUWL用洗浄消毒剤の開発には、部材への影響を考慮することが必須であるため、まず真鍮製の部材を米国製のDUWL用洗浄消毒剤、過炭酸ナトリウムを主成分とした試作薬剤などについて浸漬後評価し、影響の少ない洗浄消毒剤と作用時間をまず選択した。この洗浄消毒剤のDUWL水より検出された優勢菌のバイオフィームへの殺菌効果を検討した結果、菌種により相違が認められた。さらに実際のDUWLチューブ上に形成されたバイオフィームについての効果を検討したところ、試作薬剤M10を30分作用させると、1%次亜塩素酸ナトリウム以上の効果が認められたが、試作薬剤作用後残存し分離された菌種は、*Methylobacterium aquaticum*, *Methylobacterium brachiatum*, *Mycobacterium mucogenicum*と同定され、とくに酸素系消毒薬に抵抗性を示す*Methylobacterium*に有効性を示す薬剤が必要と考えられた。そこで、塩化ベンザルコニウムの

*Methylobacterium*への有効性を確認した上で、試作薬剤との混合薬剤について検討した結果、単独で用いた場合よりも、塩化ベンザルコニウムと試作薬剤との併用は、単独使用時よりも高い殺菌効果を示し、各濃度の試作薬剤単独を対照群として比較した場合、混合液群にはいずれも有意な生残菌代謝活性の低下効果の増強が認められた。しかしながら、バイオフィーム量の指標は、とくに殺菌効果の高い薬液濃度の組合せで無処理対照より高く、バイオフィームの変質または薬剤のバイオフィームへの沈着が疑われた。

なお、本実験での反応条件は5分であったが、現場でのDUWL洗浄作業工程を考慮した場合、作用時間を変えてさらに評価する必要がある。また、塩化ベンザルコニウムと試作薬剤との混合液に真鍮(C3604BD)製のDUWL部材を一定時間浸漬して、質量変化を測定するとともに、肉眼的劣化等を観察して評価する予定である。

E. 結論

1. H₂O₂を使用したクリーンシステムは63ヶ月間、微酸性電解水を使用したクリーンシステムは43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. 過炭酸ナトリウムを主成分とするDUWL洗浄消毒用試作薬剤は、濃度および作用時間を調整することにより、DUWL由来の菌に殺菌効果を示した。
3. 過炭酸ナトリウムを主成分とするDUWL洗浄消毒用試作薬剤は、濃度を調整することにより、長時間浸漬しても真鍮(C3604BD)製金属部材に影響を与えない。
4. 試作薬剤のみの作用では残存した*Methylobacterium*には、塩化ベンザルコニウムを混合することにより、殺菌効果の増強が認められた。

F. まとめ

本研究費補助により、DUWLの汚染対策として有効なクリーンシステムの検証とDUWL用洗浄消毒剤の開発を行うことができた。今後もDUWLの水質基準を引き続き検討し、これらの結果を基に、歯

科医師の意識改革、歯科用チェアユニット製造企業の対策への取り組みを推進していく必要がある。

G. 論文

歯科用チェアユニット給水管路の新クリーンシステムの評価

小澤寿子, 中野雅子, 木村泰子, 新井 高
日本歯科保存学雑誌 54(3) 193-200, 2011.

学会発表

Effect of new disinfectant to biofilm in dental-unit-water-line
Masanori IKENO, Masako NAKANO, Ayuko TAKAO, Toshiko OZAWA, Noriyasu HOSOYA, Nobuko MAEDA
FDI2013 Annual World Dental Congress
2013.8.28-31

歯科診療用水回路に対する試作薬剤による殺菌効果の検討 - 第1報 -
池野正典, 中野雅子, 小澤寿子
第28回日本環境感染学会 2013.3.1-2

The Disinfectant Effect of slightly acidic electrolyzed water on *Enterococcus faecalis*
Nakano Masako, Takao Ayuko*, Ikeno Masanori, Ozawa Toshiko, Maeda Nobuko*
FDI 2012 Annual World Dental Congress, Hong Kong Convention and Exhibition Centre, Hong Kong, 2012.8.29-9.1.

微酸性電解水の *Enterococcus faecalis* に対する殺菌効果
池野正典, 中野雅子, 高尾亞由子, 小澤寿子, 前田伸子, 細矢哲康
第136回日本歯科保存学会 2012年度春季学術大会
2012.6.28-29

歯科診療用水回路の汚染対策
池野正典, 中野雅子, 小澤寿子

第27回日本環境感染学会 2012.2.3-4

微酸性電解水のチェアユニット水由来細菌に対する効果

中野雅子, 高尾亞由子, 前田伸子
第20回日本口腔感染症学会 学術集会
2011.11.12-13

Evaluation of slightly acidic electrolyzed water on dental chair unit water lines
Toshiko Ozawa, Masako Nakano, Masanori Ikeno, Takashi Arai
FDI 2011 Annual World Dental Congress, Centro BANAMEX conventional and Exhibition Centre, Mexico City, 2011.9.14-17.

Effect of slightly acidic electrolyzed water on bacteria from dental unit water
Nakano Masako, Takao Ayuko*, Ozawa Toshiko, Ikeno Masanori, Maeda Nobuko*, Arai Takashi
FDI 2011 Annual World Dental Congress, Centro BANAMEX conventional and Exhibition Centre, Mexico City, 2011.9.14-17.

微酸性電解水の歯科用チェアユニット水回路の細菌汚染防止への有効性
池野正典, 中野雅子, 小澤寿子, 黒瀬慎太郎, 新井高
第12回口腔機能水学会学術大会
2011.7.30.31

クリーンシステム搭載歯科用チェアユニットの開発と評価
黒瀬慎太郎 池野正典 中野雅子 小澤寿子
鶴見歯学会第73回例会 2011.6.25

歯科用チェアユニット水回路への微酸性電解水供給システムの評価
池野正典, 中野雅子, 小澤寿子, 黒瀬慎太郎, 新井 高

第 134 回日本歯科保存学会 2011 年度春季学術大会
2011.6.9-10

歯科用チェアユニット水回路より分離した従属
栄養細菌に対する微酸性電解水の有効性

中野雅子, 高尾亞由子, 小澤寿子, 池野正典, 前
田伸子, 新井 高

第 134 回日本歯科保存学会 2011 年度春季学術大会
2011.6.9-10

H. 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: デンタルチェア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, Williams 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 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, 斉藤一郎: 歯科用チェア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: 歯科用チェアユニットの洗浄・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, 芝燦彦, 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チェアユニットの殺菌消毒効果, *口腔機水誌* 8, 44 - 45, 2007.

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）
「歯科医療機関における効果的な院内感染対策の促進に関する研究」

[H24-医療-指定-044]

分担研究報告書

病院歯科における院内感染対策促進のための科学的な評価指標の分析

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の患者が増加している。これらの患者に対する病院内歯科の医療現場では、患者個々の全身状態に対応した感染対策を取る必要がある。その際の留意点は、医科との検査データの共有と、歯科診療の際の標準予防策の実施である。特に、患者の日和見菌、あるいは薬剤耐性菌の保有状況を把握することは感染対策を講じる上で重要となる。しかしながら、これらの情報

については多くの場合、医科の細菌学的検査データに依存しているのが現状である。医科に依存することなく、歯科チェアサイド、あるいはベッドサイドにおいて、簡易かつ迅速な細菌検査を実施することができれば、口腔内の日常的な細菌検査を院内感染対策促進のための科学的な評価指標のひとつとして確立することができる。今回の研究においては、バンコマイシン耐性腸球菌（VRE）を標的とした分子生物学的検査法（PCR法ならびに Loop-mediated isothermal amplification:LAMP法）の有用性について評価した。

A. 背景と研究目的

病院歯科の現場では、医学の進歩の結果として癌患者や臓器移植患者、さらには高齢者も含め、易感染性状態の患者数が増加している。こうした状況下での歯科診療における院内感染対策は、非常に重要となる。

病院内では医科歯科両方にわたる電子診療録を用いていることが多いので十分な診療情報を得ることが可能となる。院内感染対策に関連する細菌学的データを得ることも可能ではあるが、医科で実施された検査の場合、口腔内からサンプリングを行うことは稀である。

こうした状況下での歯科診療では、独自に口腔内の細菌検査を実施し、薬剤耐性菌を主体とした日和見菌の患者分布を把握しておく必要がある。薬剤耐性菌の検査は病院の臨床検査部に依頼し、培養法を主体として実施されることになる。培養法は薬剤耐性菌を検出するための確実な方法ではあるが、分子生物学的手法を取り入れることによって、検査の迅速性と簡便性の向上を図ることができる。

Loop-mediated isothermal amplification（LAMP）法は等温遺伝子増幅法のひとつであり、高い遺伝子増幅効率を示すことから、種々の感染症の迅速・簡易検査に応用されている。

*Enterococcus faecalis*などの腸球菌は根管内に定着し、根尖性歯周炎の原因となる。また、薬剤耐性を得た場合には院内感染の原因菌として大きなリスクをもつ細菌種となる。今回の研究においては、LAMP法を応用し、バンコマイシン耐性腸球菌（VRE）に対する迅速・簡易検査を確立することを目的とした。また、歯科における院内感染対策促進の一環として、歯科チェア

サイド、あるいはベッドサイドで実施する細菌検査を念頭に、その有用性について評価した。

B. 研究方法

1. プライマーの設計

VREが保有する薬剤耐性遺伝子（*vanA*, *vanB*）を増幅するためのLAMP用プライマーを専用のソフトウェア（Primer Explorer, Fujitsu）で設計した（表1）。

2. LAMP反応

Loopamp DNA amplification kit（Eiken Chemical）を使用し、64℃で30分間の遺伝子増幅反応を行った。鋳型DNAは表2に示した供試菌から、簡易抽出（ポイリング）によって調製した。また、従来のPCR法による遺伝子の増幅を平行で行い、検査結果を比較した。

3. 増幅遺伝子の検出

LAMP法ならびにPCR法によって増幅された遺伝子の検出は電気泳動後（2%アガロース）、エチジウムブロマイド染色することによって検出した。また、LAMP遺伝子増幅産物については、反応チューブにSYBR-Green Iを添加し、目視による検出を試みた。

C. 研究結果

1 LAMP法は従来のPCR法と同様に特異的に*vanA*ならびに*vanB*を増幅した（表2）。

2 LAMP法による*vanA*ならびに*vanB*の遺伝子増幅に要する時間は30分であり、電気泳動に加え、目視によって遺伝子の増幅を確認することができた（図1）。PCR法による遺伝子の増幅には2時

間を要した。

3. 検出感度は 10 cell/reaction tube であり、PCR と同レベルであった。

D. 考察

LAMP 法は遺伝子増幅効率が高く、増幅産物の量は PCR 法に比べて膨大な量となる。このため、目視による検査結果の判定が可能となる。この方法は薬剤耐性遺伝子に対しても応用可能であることが示された。培養法は確実に薬剤耐性菌を検出・同定することができるが、検査には数日を要する場合がある。これに比べ、LAMP 法に要する時間は 30 分程度であり、迅速性に優れた特徴をもつことが確認できた。チェアーサイドやベッドサイドでの歯科診療において有用性が高い方法であり、応用の可能性をもつと考える。

病院歯科においては、摂食嚥下などの機能訓練に加えて、口腔ケアを中心とした感染管理が実施される。感染管理の科学的な評価を行うには、細菌検査は不可欠である。最近では、口腔ケアによる唾液中の細菌数変化を評価する取り組みが実施されるようになってきた。院内感染対策の観点からは、これに加え、薬剤耐性菌を標的とした口腔細菌検査が必要と考える。我々は、歯科の介入によって、口腔内に生息しているメチシリン耐性黄色ブドウ球菌の排除に成功した症例を経験したことがある。病院歯科は、単に治療にともなう院内感染の拡大を防止するにとどまらず、積極的に院内感染の原因となる細菌種を口腔内から排除する役割を担う必要がある。このためには、病院歯科従事者が細菌検査法に通じ、適切な細菌検査を応用して患者の口腔内細菌叢の把握に努める必要があると考える。

E. 結論

分子生物学的手法 (LAMP 法ならびに PCR 法) を応用した VRE 検出法の特性を評価した。LAMP 法は迅速性が要求される場合の口腔細菌検査に有用である可能性が示された。

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) Ebinuma T, Soga Y, Sato T, Matsunaga K, Kudo C, Maeda H, Maeda Y, Tanimoto M, Takashiba S. Distribution of oral mucosal bacteria with *mecA* in Patients undergoing hematopoietic cell transplantation. Supportive Care in Cancer, in press.
- 2) Shimoe M, Yamamoto T, Shiomi N, Tomikawa K, Hongo S, Yamashiro K, Yamaguchi T, Maeda H, Takashiba S. Overexpression of Smad2 Inhibits Proliferation of Gingival Epithelial Cells. J Periodont Res, in press.
- 3) Hirai K, Maeda H, Omori K, Yamamoto T, Kokeyuchi S, Takashiba S. Serum antibody response to group II chaperonin from *Methanobrevibacter oralis* and human chaperonin CCT. Pathog Dis, 68: 12-19, 2013.
- 4) Sato T, Soga Y, Yamaguchi T, Meguro M, Maeda H, Tada J, Otani T, Seno M, Takashiba S. Cytokine expression in human dermal fibroblasts stimulated with eosinophilcationic protein measured by protein array. Asian Pac J Allergy Immunol, 31: 271-276, 2013.
- 5) 目黒道生, 富山祐佳, 小出康史, 小林芳友, 小林直樹, 藤原ゆみ, 岩田宏隆, 荻田典子, 久保克行, 佐藤公磨, 山部こころ, 山本大介, 澤田弘一, 高柴正悟, 松尾浩一郎. 高齢者病棟および高齢者施設における歯科医療職の人材配置. 老年歯科医学 28: 79-87, 2013.

2. 学会発表 (Selected)

- 1) 松永一幸, 工藤直英子, 河田有祐, 前田博史, 高柴正悟. T-RFLP 法による高感度な細菌叢解析法確立のための Pilot Study. 日本歯科保存学会 2013 年度春季学術大会, 2013, 日本, 福岡, 6/27/2013~6/28/2013.
- 2) 平井公人, 前田博史, 山城圭介, 大森一弘, 峯柴淳二, 山本直史, 苔口進, 高柴正悟.

Methanobrevibacter oralis およびヒトのグループ II シャペロニンに対する免疫応答の解析. 第 56 回春季日本歯周病学会学術大会, 2013, 日本, 東京, 5/31/2013~6/1/2013.

- 3) 松永一幸, 工藤値英子, 河田有祐, 前田博史, 高柴正悟. DNA normalization を用いた細菌叢解析法確立のための Pilot study. 第 6 回日本口腔検査学会総会・学術大会, 2013, 日本, 鶴見, 9/15/2013.
- 4) 大久保 圭祐, 河田 有祐, 伊東 孝, 塩田康祥, 松永 一幸, 前田 博史, 高柴 正悟. 歯科用ユニット給水管路 (DUWL) の微生物汚染とその防止. 第 34 回岡山歯学会総会, 2013, 日本, 岡山, 10/27/2013.

- 5) 塩田康祥, 伊東孝, 工藤値英子, 高柴正悟. 海藻由来レクチンによる口腔感染制御能を有した機能性食品の開発. 第 20 回日本未病システム学会学術総会, 2013, 日本, 東京, 11/9/2013~11/10/2013.

3. その他

特に記載事項なし。

H. 知的財産権の出願・登録状況

特に記載事項なし。

表 1 . *vanA* ならびに *vanB* 増幅用の LAMP プライマー

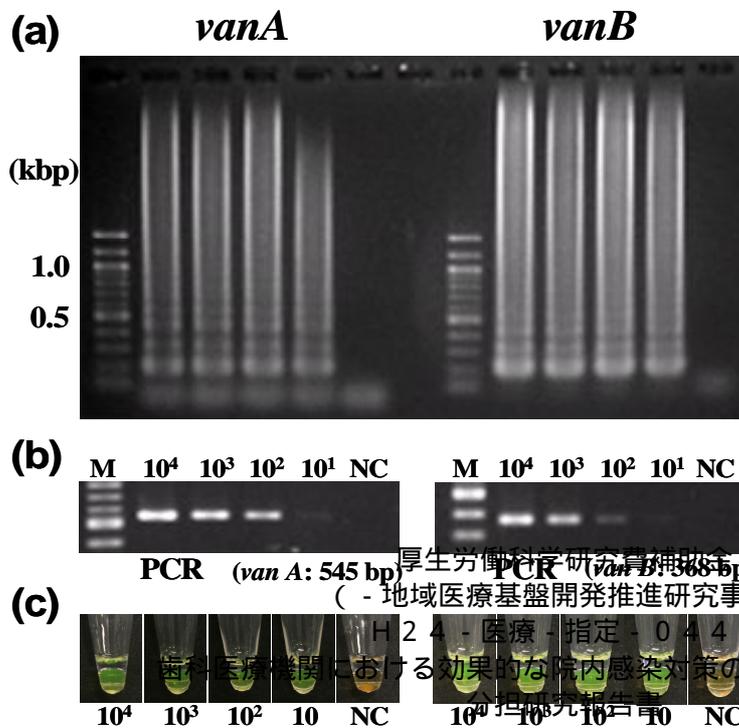
Target gene	Primer	Sequence
<i>vanA</i>	F3	5'-tggcagctacgtttacct-3'
	B3	5'-ctgatttgggtccacctcg-3'
	FIP	5'-cgcgctattgactttttcacaccctgtttttggttaagccgg-3'
	BIP	5'-cggcaagacaatatgacagcaaaactgtttccaataccgc-3'
	LB	5'-aattgagcaggctgtttcgg-3'
<i>vanB</i>	F3	5'-ggaatgggaagccgacag-3'
	B3	5'-caagctgaggagcttga-3'
	FIP	5'-acgccgtgtttcgattcgctttctccccgccatactctc-3'
	BIP	5'-ctttcccggttttgcattggcaaccacataggggataccaga-3'
	LB	5'-tgcgatacaggggctgtt-3'

表 2 . 供試菌 (臨床分離株) ならびに LAMP 法と PCR 法による *vanA* と *vanB* の検出結果

Species	Place of isolation (Country)	Number of isolates	<i>vanA</i> -positive		<i>vanB</i> -positive		Subtype B1:B2
			LAMP	PCR	LAMP	PCR	
<i>E. faecalis</i>	Hospitals (Japan)	10	8	8	2	2	0:2
	Hospitals (USA)	13	6	6	7	7	6:1
	Chicken farm (Japan)	1	1	1	0	0	-
<i>E. faecium</i>	Hospitals (Japan)	25	9	9	16	16	0:16
	Hospitals (USA)	15	12	12	4	3	1:2
<i>E. gallinarum</i>	Hospitals (USA)	6	2	2	0	0	-
<i>E. casseliflavus</i>	Hospitals (USA)	4	0	0	0	0	-
Total number (% agreement)		74	38	38	29	28	7:21
			(100%)		(96.6%)		

図 1 . 遺伝子産物の検出

パネル (a): 電気泳動による LAMP 産物の検出、パネル (b): 電気泳動による PCR 産物の検出、パネル (c): LAMP 反応の目視判定。PCR 法ならびに LAMP 法の検出感度は 10 cell であり、LAMP 法では目視による判定が可能であった。



評価指標を利用した院内感染対策促進のための細菌学的検査の確立
- 歯科医療環境におけるタバコシバンムシの生息状況調査 -

分担研究者： 荅口 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、 岡山大学教育研究プログラム戦略本部 URA 執務室・URA
渡辺朱理、 徳島大学歯学部大学院ヘルスバイオサイエンス研究部（歯学系分野）
口腔機能福祉学分野・助教

研究要旨

近年、地球温暖化による各種病害微小昆虫の発生が問題視され、これら病害微小昆虫は

病原微生物や薬剤耐性菌のベクター（運び屋）としての可能性が危惧されている

そこで、日本家屋の代表的な病害微小昆虫であるタバコシバンムシ (*Lasioderma serricirne*) を対象に歯科医院における生息状況調査を 2012 年夏（8 月、9 月）に今年度も引き続いて行った。併せて、院内感染で問題となる薬剤耐性菌、すなわち、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) や多剤耐性緑膿菌 (MDRP) や多剤耐性アシネトバクター (MDRA) に関して、それらの薬剤耐性遺伝子 (*mecA*, *vanA* および *vanB*, また *blaVIM-2* および *blaIMP-1*) を指標に捕獲したタバコシバンムシについて PCR 法によって検査した。各歯科医院に対してはタバコシバンムシ生息状況調査に関するアンケート調査も郵送法にて実施した。

その結果、昨年は記録的な猛暑の影響か、タバコシバンムシの捕獲匹数は前年に比べて 1.5 倍から 2 倍多くなっていた。タバコシバンムシからは各種薬剤耐性遺伝子は検出されなかった。アンケート調査では、タバコシバンムシのそのものに対する認知度は低かったが、生息状況調査を通して歯科医療環境整備への再認識が図られたようだ。

このような屋内病害微小昆虫を対象とする生息状況調査を歯科医療環境モニタリング、清掃度のひとつの指標として歯科医療環境整備や院内感染対策に役立てて、患者および歯科医療従事者のためのより安全で安心な歯科医療に貢献したい。

A. 研究目的

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って家屋内での南京虫 (bedbugs) の大量発生が問題となっている。またゴキブリやハエなどの病害微小昆虫がベクター（運び屋）として感染症の病因微生物や薬剤耐性菌の拡散に関与しているのではと危惧されている。さらに、近年多剤耐性緑膿菌 (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ている。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) やメタロ-ラクタマーゼ (*blaVIM-2*, *blaIMP-1*) を産生する薬剤耐性菌などは通常、院内感染対策において十分注意すべき細菌群である。

そこで、歯科医療環境調査として日本の家屋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*) の歯科医院における生息状況を 2012 年夏（8 月、9 月）に引き続き、記録的な猛暑であった 2013 年夏（8 月、9 月）にも調査した。またタバコシバンムシにおける薬剤耐性菌の有無についても薬剤耐性遺伝子 (*mecA*, *vanA* および *vanB*, また *blaVIM-2* および *blaIMP-1*) を指標に PCR 法

を用いて調査を進めた。併せてアンケート調査も実施した。

B. 研究方法

1. 歯科診療室におけるタバコシバンムシ生息状況調査： 2012 年夏のタバコシバンムシ生息状況調査に協力頂いた歯科診療所 14 軒（A 県；8 軒、B 県；4 軒、C 県；1 軒、D 県；1 軒）の 1 診療室の同じ 3 ヶ所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、1 ヶ月ごとにトラップを回収して、2 ヶ月間 (2013 年 8 月と 9 月) にわたって、昨年と同様に実施した。また今回も一般家庭 3 軒 (A 県) の台所についても調査した。

2. 薬剤耐性菌の PCR 検査： 歯科診療所 1 軒あたりで捕集されたタバコシバンムシ 8 匹をランダムにまとめ、それらからの DNA 抽出は InstaGene Matrix とともにディスポーザブル・ホモジナイザーを用いてすり潰して調製した。薬剤耐性菌は MRSA については *mecA*、VRE については *vanA* および *vanB*、さらにメタロ-ラクタマーゼ産生薬剤耐性菌については *blaVIM-2* および *blaIMP-1* のそれぞれの薬剤耐性遺伝子を増幅する特異的な PCR プライマーを用いて PCR 法で増幅し、増幅 DNA 断片の有無をアガロース電気泳動で確認することによって

検査した。

また、タバコシバンムシが保菌する細菌種は PCR 法で増幅した細菌 16S リボソーム RNA 遺伝子の塩基配列を分析して同定した。

3. アンケート調査：歯科医院におけるタバコシバンムシ生息状況調査に関して各歯科医院に郵送調査法によるアンケート調査を実施した。そのアンケートの内容は以下の通りである。

【質問1】タバコシバンムシについてご存知ですか(でした)か。a) 良く知っている、b) ある程度知っている、c) 名前は聞いたことがある、d) 全然知らない。

【質問2】タバコシバンムシ生息調査についてのご感想をお聞かせ下さい。a) とても興味を持てた、b) やや興味を持てた、c) どちらとも言えない、d) あまり興味を持ってない、e) 全然興味を持ってない。

【質問3】タバコシバンムシ生息調査方法(トラップ組み立てや設置など)はいかがでしたか。a) とても簡単だった、b) やや簡単だった、c) どちらとも言えない、d) やや煩雑だった、e) とても煩雑だった。

【質問4】地球温暖化の影響等による害虫の発生についてのご感想をお聞かせ下さい。a) とても気になる、b) やや気になる、c) どちらとも言えない、d) あまり気にならない、e) 全然気にならない。

【質問5】貴院における日頃の屋内害虫対策はどのようにされていますか。a) 定期的に専門の清掃(駆除)業者に依頼している、b) 必要に応じて専門の清掃(駆除)業者に依頼している、c) 市販の殺虫剤や害虫駆除用品(ゴキブリホイホイなど)を用いて対処している、d) 特に何もしていない。

【質問6】タバコシバンムシ生息調査結果を見て何か貴院の屋内害虫対策をされましたか。a) 専門の清掃(駆除)業者に依頼した、b) 市販の殺虫剤や害虫駆除用品(ゴキブリホイホイなど)を用いて対処した、c) 特に何もしていない。

【質問7】次回またこのようなタバコシバンムシ生息調査がある際には利用したいですか。a) ぜひ利用する、b) 機会があれば利用する、c) どちらとも言えない、d) あまり利用しない、e) 全然利用しない。

C. 研究結果

1. 歯科診療室におけるタバコシバンムシ生息調査：

歯科診療室の各所に設置して、フェロモンに誘引されトラップに捕集されたタバコシバンムシの数を計測した(図1)。歯科診療所 14 軒における 2012 年夏と 2013 年夏のタバコシバンムシの捕集結果を図2に示す。



図1. トラップにおけるタバコシバンムシ捕集状況

2012 年 8 月と 9 月の 2 ヶ月間で、0 匹；4 軒、10 匹以下；2 軒、11~20 匹；3 軒、21~30 匹；1 軒、31~40 匹；1 軒、41~50 匹；1 軒、51 匹以上；2 軒であった。一方、記録的な猛暑であった 2013 年 8 月と 9 月の 2 ヶ月間では、0 匹；4 軒、10 匹以下；2 軒、11~20 匹；1 軒、21~30 匹；1 軒、31~40 匹；1 軒、41~50 匹；1 軒、51 匹~100 匹；3 軒以上、100 匹以上；1 軒であった。

2012 年と 2013 年とを比較すると捕集総匹数

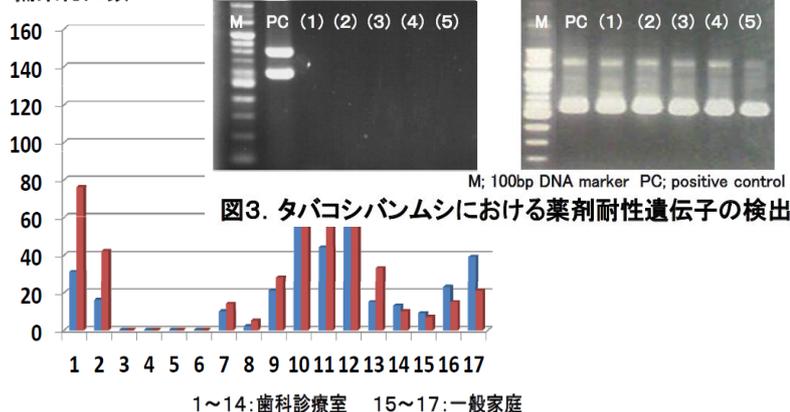


図3. タバコシバンムシにおける薬剤耐性遺伝子の検出

図2. 歯科診療室におけるタバコシバンムシ捕集結果

捕集匹数が0匹だった4軒を除いて調査し

たほとんどの歯科診療所において昨年の猛暑の影響が、タバコシバンムシの捕集匹数は約1.5倍から2倍に増加していた(図2)。

一方、一般家庭台所では、猛暑で終日冷房をかけていた影響が捕集された匹数は変わらないか減少傾向であった。

医療環境整備では目視確認だけでは行き届かないところもあり、このタバコシバンムシ生息状況調査が清掃度の指標の一助になればと思う。

昆虫が薬剤耐性菌を保菌してそれを媒介する可能性を示唆する報告を散見する(Emerg Infect Dis. 2011;17(6):1132-1134., Sci Total Environ. 2009;407(8):2701-10., Epidemiol. Infect. 1991;107, 181-187.)。

そこで、タバコシバンムシは院内感染対策で問題となるようなMRSAやVREなどの薬剤耐性菌を保菌しているか否かについて薬剤耐性遺伝子を指標にPCR法で調べた。その結果、今回捕集したタバコシバンムシからは、*mecA*、また *vanA* および *vanB*、さらに *blaVIM-2* および *blaIMP-1* のいずれの薬剤耐性遺伝子も検出されなかった(図3)。

また、タバコシバンムシが保菌する細菌種については、細菌16SリボソームRNA遺伝子の塩基配列を指標に調べた。その結果、タバコシバンムシの保菌細菌種は既報の塩基配列と98%の相同性を示す昆虫体内共生細菌の一種 *Wolbachia* sp. であった。

2. タバコシバンムシ生息調査に関するアンケート結果:

歯科医院14軒にアンケート用紙を郵送して回答を得た。回収率は100%であった。

1) タバコシバンムシの認知度は、全然知らないが64.3%と低かった。一方、ある程度知っているが14.3%、名前は聞いたことがあるが22.4%であった。

2) タバコシバンムシ生息調査に関しては、とても興味を持てたが50%、やや興味を持てたとの回答も50%であり、関心は高かった。

3) タバコシバンムシの生息状況調査の方

法(トラップの組み立てや設置)についてはとても簡単だった(92.9%)との回答を得た。

4) 地球温暖化の影響等による害虫の発生についてもとても気になる(57.1%)、やや気になる(35.7%)との回答であり、近年の地球温暖化への関心の高さが認められた。

5) 屋内害虫への対策については、何もしていないが50%で市販の殺虫剤や害虫駆除用品を使用しているが28.6%で、専門の清掃業者への駆除の依頼や清掃対策については現在のところあまりとられていないものであった。

6) タバコシバンムシ生息調査結果から、屋内害虫への新たな対応は、特に何もしていないが64.3%であった。

7) 次回のタバコシバンムシ生息調査の利用希望については、ぜひ利用する(71.5%)、機会があれば利用する(21.4%)と好評であった。

D. 考察

地球温暖化また節電の影響で国内でも発生が懸念されている病害微小昆虫について、まず、タバコシバンムシ(*Lasioderma serricirne*)の歯科診療室における生息状況調査を実施し、あわせてその昆虫が保有する薬剤耐性菌の有無についてもPCR法で調べた。今回の調査では一般家庭の台所よりもタバコシバンムシが多く捕集された歯科診療所が多く見受けられた。診療のない夜間や休日には冷房も切れてタバコシバンムシの生息しやすい環境になるのかもしれない。また昨年の夏のタバコシバンムシの捕集数が増加していたのは、記録的な猛暑が影響したのかもしれない。

今回、捕集したタバコシバンムシからは院内感染対策で問題となるような薬剤耐性菌は検出されず、タバコシバンムシの歯科医院での薬剤耐性菌伝搬への関わりは低いかもしれない。

アンケート調査の結果からは、タバコシバンムシそのものの認知度は低かったが、歯科医院におけるこのタバコシバンムシ生

息状況調査については関心が高かった。やはり近年の身近な話題である地球温暖化の影響によるものと思われる。一方で屋内害虫対策にはあまり差し迫った病害性などが感じられないためか、積極的な駆除や対策などは講じられていないようだった。

歯科医療環境整備には日頃から十分に心がけていると思うが、目視確認だけではなかなか行き届かないところもあり、今回のタバコシバンムシ調査が何らかの一助になればと思う。アンケート調査の結果から次回のタバコシバンムシ生息状況調査にはほとんどの歯科医院の協力が得られそうで、歯科医院における医療環境調査、また清掃度のひとつの指標として院内感染対策に繋げることができるように今後も研究を進めたい。

E. 結論

今回の調査では歯科診療所からもタバコシバンムシが捕集されたが、院内感染対策で問題となる薬剤耐性菌は検出されなかった。地球温暖化また節電、猛暑などの影響で国内でも病害昆虫も発生が懸念されている。歯科医療環境におけるタバコシバンムシ生息状況調査を清掃度のひとつの指標として歯科医療環境整備や院内感染対策に繋げることができるように検討してゆきたい。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

渡辺朱理, 佐藤法仁, 高久悟, 苔口進: 日米の歯科衛生士養成課程における感染予防教育の比較 質問紙法による認識度と習熟度の検討 - . 日本歯科衛生教育学会雑誌 4 巻, 1 号, 41-48, 2013 年 5 月.

Maeda H, Hirai K, Mineshiba J, Yamamoto T, Kokeyuchi S, Takashiba S.: Medical microbiological approach to Archaea in

oral infectious diseases. Japanese Dental Science Review. Vol.49: 72-78, 2013.

Hagiya H, Onishi N, Ebara H, Hanayama Y, Kokeyuchi S, Nose M, Kusano N, Otsuka F. Disseminated gonococcal infection in an elderly Japanese man. Intern Med. Vol.52(23): 2669-2673, 2013.

Hirai K, Maeda H, Omori K, Yamamoto T, Kokeyuchi S, Takashiba S. Serum antibody response to group II chaperonin from *Methanobrevibacter oralis* and human chaperonin CCT. Pathog Dis. Vol.68(1):12-19, 2013.

Soko S, Kariyama R, Mitsuhashi R, Yamamoto M, Wada K, Ishii A, Uehara S, Kokeyuchi S, Kusano N, Kumon H. Molecular Epidemiology and Clinical Implications of Metallo- β -Lactamase-Producing *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from Urine. Acta Medica Okayama. 2014(*in press*).

佐藤法仁: シリーズ院内感染対策塾 第7回病原微生物(1)肝炎ウイルス.ZOOM UP, 137, 34-35, 2013年8月.

佐藤法仁: シリーズ院内感染対策塾 第8回病原微生物(2)麻疹、風疹.ZOOM UP, 138, 32-33, 2014年2月.

佐藤法仁: 感染制御学ノート vol.16 インフルエンザウイルス 後編.DH style, 7巻, 4号, 12-17, 2013年4月.

佐藤法仁: 感染制御学ノート vol.17 水痘・帯状疱疹ウイルス.DH style, 7巻, 5号, 12-17, 2013年5月.

佐藤法仁: 感染制御学ノート vol.18

百日咳菌 .DH style, 7 卷, 6 号, 12-15, 2013 年 6 月.

佐藤法仁 : 感染制御学ノート vol.19 コクサッキーウイルス .DH style, 7 卷, 7 号, 12-15, 2013 年 7 月.

佐藤法仁 : 感染制御学ノート vol.20 アデノウイルス . DH style, 7 卷, 8 号, 12-15, 2013 年 8 月.

佐藤法仁 : 感染制御学ノート vol.21 RS ウイルス . DH style, 7 卷, 9 号, 12-15, 2013 年 9 月.

佐藤法仁 : 感染制御学ノート vol.22 マイコプラズマ . DH style, 7 卷, 11 号, 10-13, 2013 年 10 月.

佐藤法仁 : 感染制御学ノート vol.23 リケッチア(前編), 7 卷, 12 号, 12-15, 2013 年 11 月.

佐藤法仁 : 感染制御学ノート vol.24 リケッチア(後編). DH style, 7 卷, 13 号, 16-18, 2013 年 12 月.

佐藤法仁 : 感染制御学ノート vol.25 クラミジア(前編). DH style, 8 卷, 1 号, 12-14, 2014 年 1 月.

佐藤法仁 : 感染制御学ノート vol.26 . クラミジア(後編). DH style, 8 卷, 2 号, 12-15, 2014 年 2 月.

2 . 学会発表

Watanabe A, Koheguchi S. Bacterial Contamination of Dental Units used by Dental Hygiene Students . IADR Asia/Pacific Region (APR) Regional Meeting and Co-Annual Scientific Meeting of IADR Divisions . (Bangkok, Thailand) August , 2013 .

Tamaki N, Koheguchi S: Salivary Antioxidant Activity, Cytokines and Periodontitis: The Nagasaki Islands Study . IADR Asia/Pacific Region (APR) Regional Meeting and Co-Annual Scientific Meeting of IADR Divisions . (Bangkok, Thailand) August , 2013 .

渡辺朱理, 高久悟, 佐藤法仁, 苔口進 : 歯科医院におけるタバコシバンムシの生息状況調査 日本歯科衛生学会 第8回学術大会 .(兵庫県、神戸市) 2013年9月 .

横田憲治、渡邊都貴子、苔口進、林俊治、平井義一 : 病院内の環境細菌調査 . 第29回日本環境感染学会総会・学術大会 (東京都、港区) 2014年2月 .

渡辺朱理, 佐藤法仁, 苔口進 : 歯科医療環境におけるタバコシバンムシ生息実態調査からの検討 . 第29回日本環境感染学会総会・学術大会 (東京都、港区) 2014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
Ryoma Nakao, Shogo Takashiba, Saori Kosonoc, Minoru Yoshida, Haruo Watanabe, Makoto Ohnishi, Hidenobu Senpuku.	Effect of <i>Porphyromonas gingivalis</i> outer membrane vesicles on gingipain mediated detachment of cultured oral epithelial cells and immune responses.	Microbes and Infection.	16	6-16	2014
Akio Tada, Masaomi Watanabe, Hidenobu Senpuku.	Factors influencing compliance with infection control practice in Japanese dentists.	The International Journal of Occupational and Environmental Medicine	5	24-31	2014
Hirai K, Maeda H, Omori K, Yamamoto T, Koheguchi S, Takashiba S.	Serum antibody response to group II chaperonin from <i>Methanobrevibacter oralis</i> and human chaperonin CCT.	Pathog Dis,	68	12-19	2013

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	頁	出版年
Sato T, Soga Y, Yamaguchi T, Meguro M, Maeda H, Tada J, Otani T, Seno M, Takashiba S <u>Shogo Takashiba</u>	Cytokine expression in human dermal fibroblasts stimulated with eosinophil cationic protein measured by protein array.	Asian Pac J Allergy Immunol	31	271-276	2013
Maeda H, Hirai K, Mineshiba J, Yamamoto T, Kokeguchi S, Takashiba S.	Medical microbiological approach to Archaea in oral infectious diseases.	Japanese Dental Science Review	49	72-78	2013
目黒道生，富山祐 佳，小出康史，小林 芳友，小林直樹，藤 原ゆみ，岩田宏隆， 苅田典子，久保克 行，佐藤公麿，山部 こころ，山本大介， 澤田弘一，高柴正 悟，松尾浩一郎	高齢者病棟および高齢者施設における歯科医療職の人材配置	老年歯科医学	28	70-87	2013
渡辺朱理，佐藤法 仁，高久悟，苔口進	日米の歯科衛生士養成課程における感染予防教育の比較 質問紙法による認識度と習熟度の検討 -	日本歯科衛生 教育学会雑誌	4	41-48	2013

Hagiya H, Onishi N, Ebara H, Hanayama Y, Koheguchi S, Nose M, Kusano N, Otsuka F.	Disseminated gonococcal infection in an elderly Japanese man.	Intern Med.	52	2669-2673,	2013
佐藤法仁	シリーズ院内感染対策塾 第7回 病原微生物(1) 肝炎ウイルス	ZOOM UP	137	34-35	2013
佐藤法仁	シリーズ院内感染対策塾 第8回 病原微生物(2) 麻疹、風疹	ZOOM UP	138	32-33	2013
佐藤法仁	感染制御学ノート vol.18 百 日咳菌	DH style	7(5)	12-15	2013
佐藤法仁	感染制御学ノート vol.16 イン フルエンザウイルス 後編	DH style	7(4)	12-17	2013
佐藤法仁	感染制御学ノート vol.17 水 痘・带状疱疹ウイルス	DH style	7(5)	12-15	2013

IV . 研究成果の刊行物・別刷