

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 9 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26463163

研究課題名(和文)在宅歯科医療における標準的環境感染予防システムの構築

研究課題名(英文) Construction of standard environmental infection prevention system in Home Dental Care

研究代表者

渡辺 朱理 (WATANABE, Akari)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部(歯学系)・助教

研究者番号：80585026

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：要介護高齢者や易感染性宿主を対象に、居住環境にて在宅歯科医療が行われることが多くなり、周辺環境の感染予防対策の整備・充実は急務の課題である。本研究の目的は、今まで手が付けられていなかった在宅歯科医療が行われる居住環境の清浄度や汚染の状況を調査することである。在宅歯科医療周辺環境においても、患者の唾液によるエアロゾル飛散で曝露されるリスクが高く、適切な口腔衛生管理が環境感染予防に繋がることが示唆された。ATP測定法や病原害虫検査は、目視だけでは確認できない汚染状態を簡便で迅速に調査でき、定期的な環境管理やモニタリングを容易に評価できた。

研究成果の概要(英文)：Home Dental Care, also called Domiciliary Oral Healthcare, is a special dental service that elderly requiring long-term care or immunocompromised patients receive in their home. So, the most urgent problem is maintenance and improvement of infection control for Home Dental Care environment. The aim of this study was to investigate the cleanness and microbial contamination in Home Dental Care environment which has not been reported. It was revealed the surrounding environment during Home Dental Care treatments were exposed by aerosol and droplets scattering from patients' saliva including oral bacteria and adequate oral hygiene management would lead to environmental infection prevention. The ATP-bioluminescence method and the survey for the pathogenic pest were possibly easy and quick methods to evaluate visually the cleanness and contamination in Home Dental Care environment. They were also useful and effective for the environmental hygiene monitoring and management.

研究分野：医歯薬学

キーワード：在宅歯科医療環境 デンタルユニット給水系 ATP測定法 口腔内細菌 細菌汚染状況 病原昆虫生息調査 メチシリン耐性ブドウ球菌

### 1. 研究開始当初の背景

歯科医療を行う環境は、常時周囲に患者の血液や唾液などがミストとして飛散しているため、感染予防対策の充実が患者と歯科医療従事者双方の安全を確保する上で必須である。現在、歯科医療は、誤嚥性肺炎や全身疾患の予防として要介護高齢者や易感染性宿主に対する歯科治療や口腔ケアの重要性が認識され、在宅歯科医療の機会が増えている。そのため、歯科医院以外の医療機関、介護福祉施設や居宅などで在宅歯科医療を行うことが多く、在宅歯科医療実施環境における感染予防対策の整備および充実が重要かつ急務な課題であると考えた。

### 2. 研究の目的

研究の目的は以下の3項目に設定した。

(1)在宅歯科医療が行われる居住環境の実態について検査技術を駆使して調査し、在宅歯科医療環境の現状を明らかにする。(2)在宅歯科医療実施の居住現場における簡便、迅速かつ高感度な検査方法を確立し、エビデンスに基づいた在宅歯科医療環境における感染予防対策の評価指標策定に発展させる。(3)この調査研究から居住環境管理における急務な改善課題や問題点を明らかにすることで、在宅歯科医療への感染予防対策の推進および意識改革に繋げる。

### 3. 研究の方法

(1) ATP 測定を用いたデンタルユニット(DU)給水系(DUWLs)清浄度調査

DUは臨床実習用7台と診療室11台の計18台を対象とした。臨床実習用DUWLsから実習終了2週間後、また診療室DUWLsからは土日明けの診療開始前に採水した。試料水はスリーウェイシリンジ、歯科用タービン、マイクロモーター、洗口水の給水箇所から10mlずつ採水した。試料水は液体専用清浄度検査用の「ルシパックPen-AQUA」とATP測定器「ルミテスターPD-20」(Kikkoman Biochemicals)を用いてATP値(単位RLU)を測定した。また、臨床実習用DUWLsでは2分間のフラッシング後も測定した。従属栄養細菌の培養はR2A培地で25℃、7日間培養した。培養後、寒天培地に増殖したコロニー数を計測し、算出したCFU値とATP値と比較した。R2A培地で培養された細菌のグラム染色を行い、さらに細菌同定キット(IDテスト・NF-18「ニッスイ」)を用いて菌種を同定した。

(2) DUWLs細菌汚染状況調査

歯科診療室の8台のDUを対象とした。診療終了時および休日をはさんで3日半後の診療開始前にそれぞれスリーウェイシリンジから採水し、試料とした。従属栄養細菌の培養はR2A培地で25℃、7日間培養した。PCR-Denaturing Gradient Gel Electrophoresis(DGGE)法で解析し、細菌種

の同定は16S rRNA遺伝子の塩基配列を指標に同定した。

(3) 歯ブラシへの付着・残存口腔内細菌調査

歯ブラシへの付着・残存口腔内細菌数測定  
使用した歯ブラシはかたさが「ふつう」、植毛部形態が「フラット3列」を用いた。歯磨剤は使用せずに、「朝食後」と「就寝前」の1日2回使用し、1回の使用時間は3分間を1ヵ月間連続使用した。1週間ごとに歯ブラシに付着・残存した口腔内細菌数を計測した。

歯ブラシの種類および使用条件による歯ブラシへの付着・残存口腔内細菌数の比較

歯ブラシの種類と使用条件による歯ブラシへの付着口腔内細菌数を比較した。歯ブラシの使用条件は、植毛部形態(フラット3列、フラット4列、3D)、毛のかたさ(ふつう、かため、極やわらかめ)、ブラッシング時間(3分、5分)、歯磨剤(使用あり、使用なし)である。1日の歯磨き回数は「朝食後」と「就寝前」の2回で、各歯ブラシを1週間使用した後、培養してコロニー数を計測し、CFUを算出した。

(4) 口腔清掃と洗口との併用における口腔内細菌排出調査

同意が得られた65歳以上の入院患者25名を対象とした。洗口ができる者に対しては、スポンジブラシで口腔清掃を行った後、希釈イソジンうがい液(6%希釈)または水で洗口を行った。さらに口腔清掃なしでうがい液または水のみでの洗口についても比較した。洗口ができない者に対しては、うがい液または水で浸したスポンジブラシとガーゼで口腔清掃を行った。口腔清掃前と口腔清掃30分後に採取した唾液を血液寒天培地とMS培地へ接種し、炭酸ガス培養した後、それぞれの培地のコロニー数を計測し比較した。統計解析は口腔清掃前後でt検定にて行った。

(5) 歯科予防処置における飛散汚染状況調査

調査部位は、術者のマスク、胸部、前腕部、術者用ゴーグルと患者用ゴーグルの5か所とした。調査部位は測定前に80%アルコール含浸綿で清拭した。超音波スケーリング(USS)と専門的機械的歯面清掃(PMTC)を各10分間行い、両処置前後について、その汚染度をATP測定法で調査した。統計解析はt検定にて行った。さらに、口腔内細菌の飛散については選択培地を用い培養法で調査した。

(6) 病院内環境におけるメチシリン耐性ブドウ球菌調査

一般病室(ナースステーション含む)、MRSA保菌患者の病室において、高頻度で手指が触れると思われる場所や医療用具を、スマートチェックを用いて拭き取りを行った。

その後マンニット食塩寒天培地®とオキサリリン 5µg/ml を含むミューラーヒントン寒天培地に接種し、37 で 24 時間培養した。

(7) 歯科医療従事者における病原害虫タバコシバンムシについての意識調査

タバコシバンムシの生息状況調査を行った歯科医院 14 件の歯科医療従事者を対象に、タバコシバンムシに関する意識調査を行った。質問項目は、「タバコシバンムシの存在有無」「調査方法の難易度」や「日常の屋内害虫駆除対策」など 7 項目である。

(8) 居住環境内における病原害虫タバコシバンムシ生息調査

本調査内容に同意が得られた在宅歯科医療を行う一般居住 10 軒を対象に、タバコシバンムシトラップ(NEW SERRICO: 富士フレイバー社製)を 2 ヶ月間(8~9 月)仕掛け、捕集されたタバコシバンムシの数を計測した。タバコシバンムシが保菌する細菌種は細菌 16S rRNA 配列で同定した。

4. 研究成果

(1) ATP 測定を用いた DUWLs 清浄度調査  
DUWLs から培養された従属栄養細菌 CFU 値と ATP 値とは強い相関が認められた(図 1)。DU の各給水箇所からの試料水の ATP 値はそれぞれ異なり、水質(清浄度)に違いがみられた。特に給水箇所の使用頻度によって ATP 値に大きな差がみられた。また、2 分間のフラッシング後には臨床実習用 DUWLs すべての給水箇所ですべての初流水に比べ、ATP 値の大幅な減少を認めた(図 2)。主な細菌種は従属栄養細菌の *Novosphingobium* sp. や *Methylobacterium* sp. などであった。

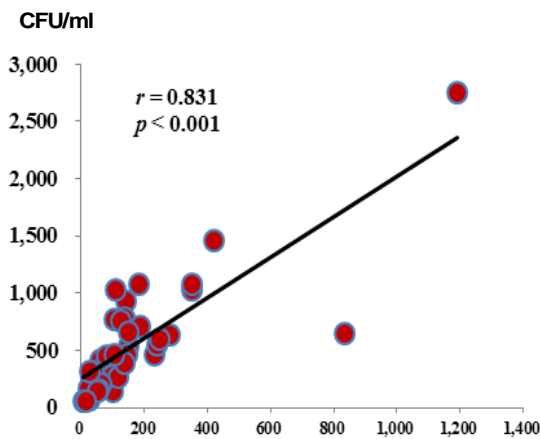


図 1 従属栄養細菌数と ATP 値の相関関係

(2) DUWLs 細菌汚染状況調査

CDC が推奨する従属栄養細菌数 500CFU/mL の基準に、診療開始前の全ての DUWLs と日常の歯科診療終了時でも、3 分の 2 が達していなかった。給水停止によって

生息細菌数は最大約 10 倍に増加した。レジオネラ菌は検出されなかった。PCR-DGGE 法で分析した結果、いずれの給水系にも主に *Novosphingobium* 種が生息することが判明した。

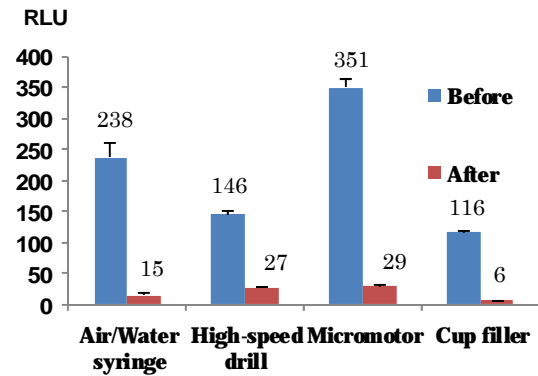


図 2 フラッシング前後の ATP 値の比較結果

(3) 歯ブラシへの付着・残存口腔内細菌調査

歯ブラシ使用開始から 1 週間目には、歯ブラシあたり  $1.0 \times 10^7$  CFU、3 週間目には  $1.0 \times 10^8$  CFU と、歯ブラシに付着・残存する口腔内細菌数の増加が見られた。3 週間目以降は付着・残存する口腔内細菌数にほとんど変化はなく、1 ヶ月後の歯ブラシには  $1.0 \times 10^8$  CFU の口腔内細菌が付着していた(図 3)。歯ブラシの種類や使用条件別の付着・残存口腔内細菌数を比較した結果、歯磨剤を使用した歯ブラシのみ、付着・残存口腔内細菌数が有意に少なかったが、歯ブラシの硬さやブラッシングにかかる時間などでは有意差が認められなかった。

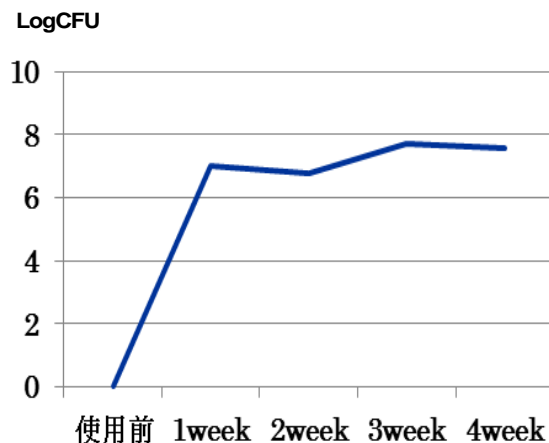


図 3 1 ヶ月連続使用した歯ブラシへの付着口腔内細菌数の変化

#### (4) 口腔清掃と洗口との併用における口腔内細菌排出調査

洗口ができる者ではうがい液や水で洗口すると、うがい液の使用で総細菌数に有意な減少が認められた。また口腔清掃後にうがい液や水で洗口した場合には総細菌数は有意に減少した。一方、洗口ができない者では口腔清掃後も総細菌数や *Streptococcus* の菌数ともに有意な減少は認められなかった。

#### (5) 歯科予防処置における飛散汚染状況調査

ATP測定法ではUSSとPMTC処置後には、術者のマスク、胸部、前腕部、術者用ゴーグルと患者用ゴーグル5か所すべてで汚染度は有意に上昇した。マスク、胸部、前腕部では、ほぼ同程度の汚染度であった。また、調査部位すべてから口腔レンサ球菌が認められ、歯科予防処置でも、患者の唾液などによる高い曝露リスクが認められた。さらに、術者用ゴーグル特に患者用ゴーグルは最も汚染度が高かった。

#### (6) 病院内環境におけるメチシリン耐性ブドウ球菌調査

今回調査した病院内環境からは、*Staphylococcus aureus* が13.8%、表皮ブドウ球菌に代表されるコアグラゼ陰性ブドウ球菌(CNS)が77.8%の割合で検出された。薬剤耐性菌率の割合は、一般病室では *S.aureus* は16.7%、CNSで22.9%であったが、MRSA保菌患者の病室では、*S.aureus*、CNS共に100%であった。特に患者が触れるナースコールやサイドレールやベッドサイドの床からMRSAが多く検出された。

#### (7) 歯科医療従事者における病原害虫タバコシバンムシについての意識調査

病原昆虫であるタバコシバンムシについて知らないとの回答が6割以上であり、地球温暖化による病害昆虫の発生は気になるものの、特に何も対策を行っていないという回答が半数であった。ほぼすべての歯科医療従事者がタバコシバンムシの生息調査に興味をもち、操作が簡単だったとの回答を得た。

#### (8) 居住環境内における病原害虫タバコシバンムシ生息調査

居住環境中でのタバコシバンムシの捕集数は、2ヵ月間で約1800匹であった。今回捕集したタバコシバンムシからは、MRSA、VREやMDRPなどの薬剤耐性菌は認められなかったが、*Bacillus cereus*、*Bacillus siamensis*などの細菌が検出された。

#### (9) 考察

臨床実習用と診療室ともにDUWLsの配管内には、水質管理基準値より相当高い従属栄養細菌数が貯留していることが認められた。水質(清浄度)の調査で用いたATP測定法

は、ATPが含まれる生菌/死菌に加えてヒトの手指や体液(唾液、血液など)由来の汚れも反映するので、病院清掃管理における清浄度の指標として評価されている。今回のDUWLsから培養された従属栄養細菌コロニー数とATP値とは強い相関が認められ、特に、臨床実習用DUWLsすべての給水箇所2分間のフラッシング後には初流水に比べ、ATP値の大幅な減少が示された。DUWLs試料水の細菌培養検査には数日から1週間要するが、このATP測定法は測定結果を得られるまで10秒と迅速かつ高感度である。DUWLsの主な検出細菌については、水中などの環境中に生息する *Novosphingobium* sp. や *Methylobacterium* sp. であることがPCR-DGGE法により認められた。PCR-DGGE法は、水質環境調査で用いられ、培養法に比べ、迅速で簡便にDUWLsの細菌生息実態をパターン化、プロファイル化できた。ATP測定法、PCR-DGGE法ともに、DUWLsにおけるモニタリングや水質評価など定期的な環境管理も含めた歯科医療実施環境評価に有用であると考えられる。在宅歯科医療環境調査として、日本の家屋における病原昆虫のひとつであるタバコシバンムシの生息状況を一般居住で調査した。タバコシバンムシの捕集数は、以前調査した歯科医院での捕集数(約300匹)を上回り、食中毒の原因菌の1つである *B.cereus* が検出された。歯科医療従事者に行ったタバコシバンムシについての意識調査でも、ほぼすべてが生息調査に興味をもち、その存在に注意を払うようになることから、今後タバコシバンムシ生息状況調査が、在宅歯科医療環境における感染予防対策指標の1つとして繋げていくことができると考える。

誤嚥性肺炎や全身疾患の予防として要介護高齢者や易感染性宿主に対する口腔衛生管理や口腔ケアが重要視されている。今回、在宅歯科医療においてスポンジブラシやガーゼでの口腔清掃のみでは口腔内細菌数の減少効果を得ることは不十分であることが認められた。口腔清掃後に洗口を併用することで、口腔内細菌の確実な排出や殺菌につながるが、洗口ができない者についての有効な口腔ケアの方法は、洗口に用いる溶液の種類や濃度も踏まえて、現在検討している。また、歯ブラシに関しても、1ヵ月間使用した歯ブラシは、毛先の広がりや摩耗から口腔内細菌が付着・残存しやすい環境となり、不衛生な状態であることが明らかとなった。歯ブラシの硬さ、形態、ブラッシング時間の違いといった歯ブラシの種類や使用条件にかかわらず、歯ブラシへの付着・残存口腔内細菌数の状況に変化はなく、定期的な交換が望ましいといえる。

さらに、口腔衛生管理や口腔ケア後においても、患者の口腔レンサ球菌を含む唾液などが飛散し、飛散汚染度が有意に上昇することがATP測定法により認められた。唾液など

の曝露リスクは術者と患者双方にも高く、患者用ゴーグルの着用など新たな感染予防対策も必要であることが示唆された。

在宅歯科医療は、居住環境で行われることが多いため、定期的なモニタリングや環境衛生管理の徹底は必須である。今回の調査から、目視だけでは確認できない清浄状態を簡便で迅速に調査できる ATP 測定法やタバコシバンムシ生息調査は、在宅歯科医療環境における感染予防対策の評価として適応できる。また、在宅歯科医療で行う口腔衛生管理や口腔ケアは、要介護高齢者や易感染性宿主が対象となるため、適切な口腔内細菌の排出や殺菌が感染予防対策につながると考える。在宅歯科医療における感染予防対策の更なる充実を図るため、今後は院内感染予防対策を踏まえた歯科医療環境調査研究を進め、在宅歯科医療における感染予防対策に役立つ指標や基準を策定していく予定である。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 6 件)

A.Watanabe, N.Tamaki, K.Yokota, M.Matsuyama and S.Kokeguchi: Monitoring of bacterial contamination of dental unit water lines using adenosine triphosphate bioluminescence. Journal of Hospital Infection, 94:393-396,2016.(査読有) DOI: 10.1016/j.jhin.2016.08.001

渡辺朱理, 高久悟, 松山美和, 苔口進: 臨床実習用デンタルユニット給水ライン(DUWLs)における細菌生息状況調査.日本歯科衛生教育学会雑誌,7:58-64,2016.(査読有)

A.Watanabe, N.Tamaki, M.Matsuyama and S.Kokeguchi: Molecular analysis for bacterial contamination in dental unit water lines. New Microbiologica, 39:143-145, 2016.(査読有)  
[http://www.newmicrobiologica.org/PUB/all\\_egati\\_pdf/2016/2/143.pdf](http://www.newmicrobiologica.org/PUB/all_egati_pdf/2016/2/143.pdf)

松尾貴央, 松山美和, 渡辺朱理, 中谷謙: 嚙下障害のスクリーニングテストの比較研究.日本摂食嚙下リハビリテーション学会雑誌,20:3-10,2016.(査読有)

長瀬優里, 苔口進, 横田憲治, 松山美和, 渡辺朱理: 歯ブラシへの付着・残存口腔内細菌調査.四国公衆衛生学会雑誌,61:87-92,2016.(査読有)

大村智也, 松山美和, 渡辺朱理, 小林莉子, 前田さおり: 地域在宅高齢者における骨格筋量・骨格筋力と開口力との関連性.日摂食嚙下リハ会誌,19:214-221,2015.(査読有)

〔学会発表〕(計 11 件)

横田憲治, 松下治, 山本由弥子, 美間健彦, 後藤和義, 渡辺朱理, 苔口進: 岡山大学病院における *Helicobacter pylori* 各薬剤耐性菌の状況、第 69 回日本細菌学会中国・四国支部総会、2016/10/16、かがわ国際会議場(香川県高松市)

渡辺朱理, 横田憲治, 苔口進, 松山美和: 病院内環境におけるメチシリン耐性ブドウ球菌調査、日本歯科衛生学会第 11 回学術大会、2016/9/18,19、広島国際会議場(広島県広島市)

A.Watanabe, N.Tamaki and S.Kokeguchi: Bacterial Contamination Monitoring of Dental Unit Water Lines Using ATP Bioluminescence Analysis, 94th General Session & Exhibition of the IADR, 2016/6/25, Seoul, Republic of Korea (Seoul, Korea)

苔口進, 渡辺朱理, 横田憲治: 口腔内におけるメトロニダゾール耐性歯周病細菌の調査、第 31 回日本環境感染学会総会、2016/2/20、国立京都国際会館(京都府京都市)

渡辺朱理, 横田憲治, 松山美和, 苔口進: 口腔清掃と洗口との併用効果の検討ー口腔内細菌数を指標にしてー、日本歯科衛生学会第 10 回学術大会、2015/9/21,22、札幌コンベンションセンター(北海道札幌市)

A.Watanabe, N.Tamaki, S.Kokeguchi and M.Matsuyama: A survey of *Lasioderma serricornis* (FABRICIUS) in Japanese Dental Clinics, 93rd General Session & Exhibition of the IADR, 2015/3/12, John B.Hynes Veterans Memorial Convention Center (Boston, USA)

苔口進, 狩山玲子, 横田憲治, 渡辺朱理: 細菌必須遺伝子を標的とする阻害リード化合物の口腔細菌に対する効果、第 30 回日本環境感染学会総会・学術集会、2015/2/21、神戸国際展示場、(兵庫県神戸市)

横田憲治, 渡邊都貴子, 林俊治, 渡辺朱理, 苔口進: 環境汚染菌の消毒剤含浸ワイプによる拭き取り効果の検討、第 30 回日本環境感染学会総会・学術集会、2015/2/20、神戸国際会議場、(兵庫県神戸市)

横田憲治, 松下治, 山本由弥子, 渡辺朱理, 美間健彦, 後藤和義, 苔口進: 院内環境より分離した *Staphylococcus* の分子疫学、第 67 回日本細菌学会中国・四国支部総会、2014/10/5、徳島文理大学(徳島県徳島市)

蒼口進,狩山玲子,渡辺朱理,横田憲治:細菌  
必須遺伝子 lpxC を標的とする阻害リード化  
合物の口腔細菌に対する効果、第 67 回 日本  
細菌学会中国・四国支部総会、2014/10/4、徳  
島文理大学 (徳島県徳島市)

渡辺朱理,玉木直文,蒼口進,松山 美和:  
DUWLs 水質評価における液体専用清浄度検  
査 ATP 測定法の有用性について、日本歯科  
衛生学会第 9 回学術大会、2014/9/14、大宮  
ソニックシティ (埼玉県さいたま市)

〔その他〕

ホームページ等

徳島大学教育研究者総覧 歯学部 口腔保  
健学科 口腔保健支援学講座

[http://pub2.db.tokushima-u.ac.jp/ERD/pers  
on/261377/profile-ja.html](http://pub2.db.tokushima-u.ac.jp/ERD/person/261377/profile-ja.html)

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

渡辺 朱理 (WATANABE, Akari)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部・助教

研究者番号：80585026

### (2)研究分担者

松山 美和 (MATSUYAMA, Miwa)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部・教授

研究者番号：30253462

蒼口 進 (KOKEGUCHI, Susumu)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・准  
教授

研究者番号：10144776

横田 憲治 (YOKOTA, Kenji)

岡山大学・大学院保健学研究科・教授

研究者番号：00243460