

デンタルユニット給水系の汚染とその防止

—チューブ内面でのバイオフィーム形成と
フッ素コートチューブの汚染防止効果—



1)



2)



3)

今里 聡¹⁾
藪根 敏晃²⁾
恵比須繁之³⁾

1) いまざと さとし

大阪大学大学院歯学研究科口腔分子感染制御学講座（歯科保存学教室）准教授、博士（歯学）。国際歯科研究学会（IADR）Dental Materials Group President, 日本歯科保存学会専門医・指導医、接着歯科治療認定医、日本歯科理工学会 Dental Materials Senior Advisor, 日本歯科保存学会奨励賞受賞。1986年大阪大学歯学部卒業、1993年英国ニューカッスル大学客員研究員、1999年より現職。1961年生まれ、兵庫県出身。主研究テーマ：抗菌性レジンを始めとする Bio-active な修復材料の開発

2) やぶね としあき

大阪大学大学院歯学研究科口腔分子感染制御学講座（歯科保存学教室）助教。博士（歯学）。日本歯科保存学会専門医。1998年大阪大学歯学部卒業、2007年より現職。1973年生まれ、和歌山県出身。主研究テーマ：デンタルユニット給水系バイオフィームに関する研究

3) えびす しげゆき

大阪大学大学院歯学研究科口腔分子感染制御学講座（歯科保存学教室）教授。歯学博士。日本学術会議連携会員、日本歯科保存学会理事長、大阪大学歯学部附属病院長等を歴任。1972年大阪大学歯学部卒業、1976年同・大学院歯学研究科修了、1996年より現職。1948年生まれ、大阪府出身。主研究テーマ：オーラルバイオフィーム（とくにデンタルブラーク）の形成機序と抑制法に関する研究

要 約

院内感染防止の観点から、近年、わが国においてもデンタルユニット給水系の汚染についての関心が高まりつつある。ユニットからの細菌の放出は、給水チューブ内面に形成されたバイオフィームに起因している。このバイオフィームを構成する主な細菌は、水道水由来の低毒性の桿菌と糸状菌であり、健康人では問題となるような細菌ではない。給水系の汚染防止対策は、易感染性宿主に対する日和見感染のリスクを低減する意味で意義があり、バイオフィーム形成の抑制に有効なフッ素コートチューブの使用は、簡便な対策のひとつとして推奨される。

はじめに

高齢者人口や易感染性宿主の増加に伴い、院内感染の防止は医科領域全般における重大な問題として認識されるようになってきた。歯科においては、印象材や光重合照射器などの器材を介した交叉感染のほか、比較的以前から、とくに欧米を中心に、デンタルユニット給水系の汚染について深い関心が寄せられている。

デンタルユニットから放出される水の汚染に関しては、古くは1960年代にすでに最初の報告がなされている。ただし、当時問題視されていたのは、エアータービン停止時に生じた陰圧により口腔内細菌がハンドピース内に吸引されることによって生じる汚染であり¹⁾、逆流防止弁の搭載や患者毎にハンドピースを交換する対策がとられるようになった現在では、すでに解決済みに近い。

一方で、1990年頃より、ユニット給水系のチューブ内面に形成されたバイオフィームに起因する汚染が注

キーワード

ユニット給水系／バイオフィーム／フッ素チューブ

目されはじめた^{2, 3)}。すなわち、診療終了後の夜間や休診日といった長時間にわたる給水の停止時に、デンタルユニットの給水チューブ内に滞留した水中で細菌が増殖してバイオフィームが形成され、増殖した細菌やバイオフィームから落屑した細菌がハンドピース等から放出されることが数多く報告されるようになった(図1)。この事実が実際にどの程度重大な問題であるかは、世界的に見てもまだ明確にされていないが、院内感染をトータルに考えた場合、ユニット汚染の現状について理解し、その対策についての知識を備えておくことは重要である。

本稿では、われわれの研究^{4, 5)}により明らかとなった給水チューブ内面でのバイオフィーム形成の実態と、それに関わる細菌群およびバイオフィーム形成プロセスについて解説するとともに、汚染防止対策のひとつとして、フッ素コートした給水チューブによるバイオフィーム抑制効果について紹介する。

1. 給水系におけるバイオフィーム形成の実態

図2は、2年6ヵ月または9年間使用したユニットのエアタービン用給水チューブの一部を採取し、走査型電子顕微鏡で内面を観察したものである。

いずれも、チューブ内面全体にバイオフィームが形成されているのが分かる。桿菌で構成された細菌塊の上に糸状菌が付着して網状の構造を呈しており、菌体間には菌体外マトリックスの存在が観察される。9年間使用したユニットの方が糸状菌の付着はより密であるが、バイオフィーム層の厚みは2年6ヵ月間使用したユニットとあまり差は認められない。

特段の対策を施さずに臨床で長期間使用したユニットの給水系チューブの内面は、紛れもなく成熟したバイオフィームで覆われているというのが実状である。

2. バイオフィーム形成に関与する細菌と形成プロセス

では、給水系チューブ内面のバイオフィームはどういった細菌によって形成されているのであろうか。ま

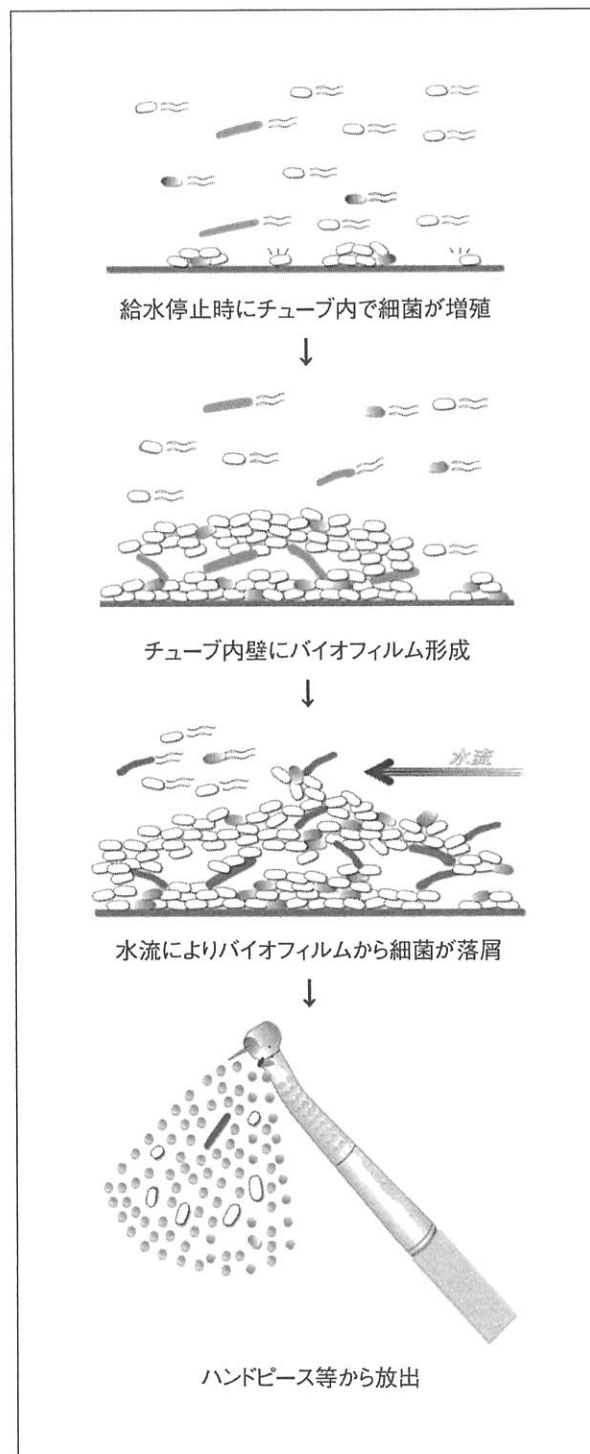


図1 ユニット給水系における汚染の発生

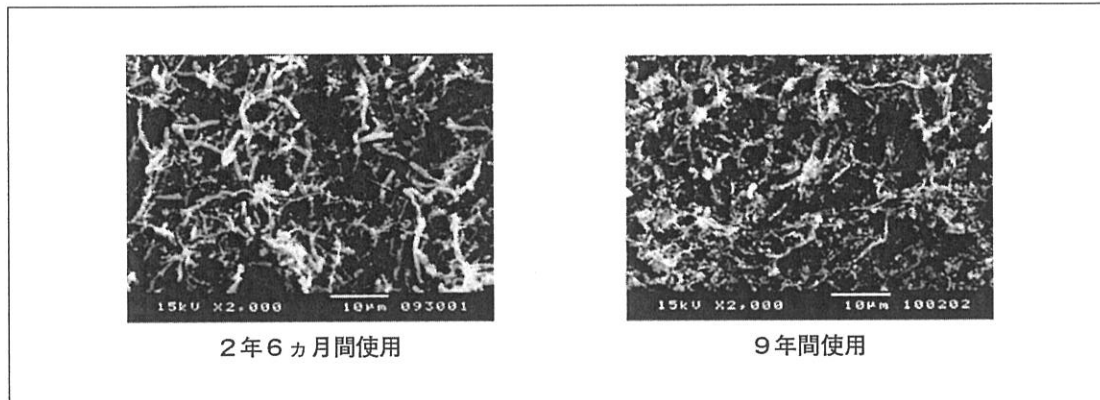


図2 2年6ヵ月および9年間使用した給水系チューブの内面

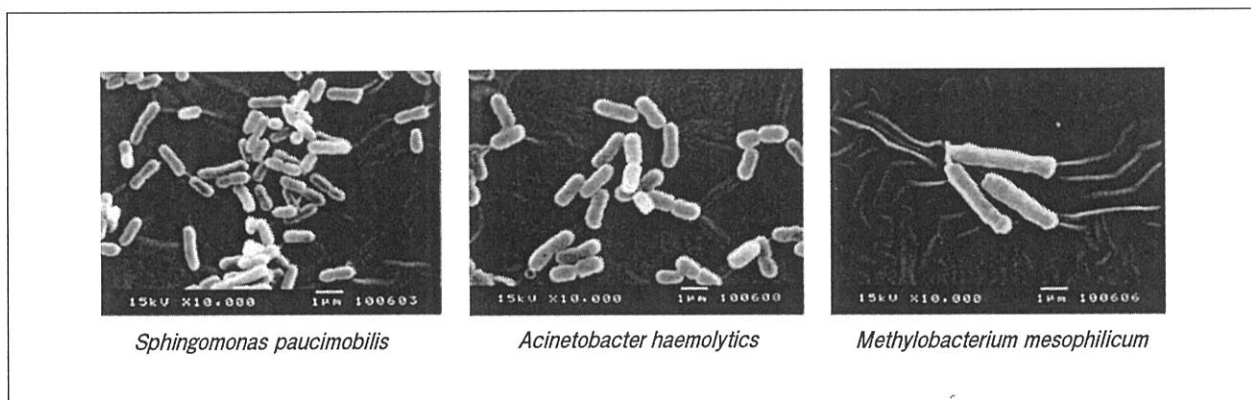


図3 水およびバイオフィルムサンプルから同定された3種の細菌

ず、8年間使用したユニットのエアタービンハンドピースから採取した水を口腔細菌の発育に適した栄養培地を用いて培養したところ、*Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Actinomyces*, *Fusobacterium* などの口腔細菌は全く検出されず、ユニットから放出される水には口腔細菌は含まれていないことが確認された。すなわち、ハンドピースを通しての口腔細菌による汚染はほとんど生じないものと考えてよく、ユニット給水系の汚染原因菌はやはり上水道に含まれる細菌であると推測された。

上水道に含まれる細菌は、従属栄養菌と呼ばれる種類のものである。従属栄養菌は、低栄養環境でしかも人間の体温より低い温度において生育しやすく、通常の栄養培地では検出されにくい。そこで、給水系のチューブ内の水とバイオフィルムからサンプルを採取

し、従属栄養菌の培養に適したR2A培地を用いて25℃での培養を行った。R2A培地は、飲用水中の従属栄養菌の培養用として開発されたもので、酵母エキスやカゼインペプトンの量が標準寒天培地の5分の1程度であり、本年4月から見直しが実施された水道法における水質管理目標においてもその使用が指示されている培地である。

R2A培地での培養の結果、チューブ内の水、バイオフィルムサンプルとも、たくさんのコロニーの生育が認められたが、それらは、主に、正円形で辺縁が不整な黄色のコロニーと正円形で辺縁がなめらかな赤色のコロニー、ならびに正円形で辺縁が不整な白色のコロニーの3種で占められていることが分かった。そして、それぞれを単離培養してコロニーを形成した細菌を同定した結果、黄色のコロニーと白色のコ

ロニーを形成したものはいずれもグラム陰性桿菌で、それぞれ *Sphingomonas paucimobilis* と *Acinetobacter haemolyticus*、赤色のコロニーを形成したものはグラム陰性の糸状菌である *Methylobacterium mesophilicum* であると判明した (図3)。

これらは、いずれも、過去にも給水系から検出されることが報告されている細菌であり^{6,7)}、決して特殊な微生物ではない。また、3種の細菌の構成比率は、水サンプル、バイオフィームサンプルとも、*S. paucimobilis* : *A. haemolyticus* : *M. mesophilicum* = 18 : 1 : 1であった。

チューブ内の水サンプルおよびバイオフィームサンプルから同一の細菌種がほぼ同一の比率で検出された事実より、これらの細菌がチューブ内壁でのバイオフィーム形成に関与することは間違いないものと思われる。3種の細菌は、いずれも、上水道由来の毒性の弱い細菌であり、健全な人にはほとんど影響を及ぼさないといいよい。ただし、弱・低毒性細菌であって

も、易感染性宿主にとっては日和見感染の原因となりうることはよく知られており、例えば *S. paucimobilis* は、髄膜炎、敗血症、菌血症、腹膜炎等において検出されたとの報告がある (表1)。

3. チューブ内でのバイオフィーム形成プロセス

次に、給水チューブ内のバイオフィーム形成プロセスを解明するために、臨床使用により形成されたバイオフィームを *in vitro* で再現する試みを行った。

バイオフィーム形成に関与すると考えられた *S. paucimobilis*, *A. haemolyticus*, *M. mesophilicum* の3種の細菌を、検出された比率に従って18 : 1 : 1の割合で混合し、この混合細菌懸濁液に給水系に使用されるウレタン樹脂製チューブを浸漬して25℃で培養した。

24, 48, 96時間と経時的にチューブ内面を走査型電子顕微鏡で観察したところ、96時間培養後には、6カ

表1 同定された3種の細菌の特徴

<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	<i>Acinetobacter haemolyticus</i>	<i>Methylobacterium mesophilicum</i>
グラム陰性偏性好気性桿菌	グラム陰性好気性桿菌	グラム陰性糸状菌
水、土中に存在	水由来菌	水由来菌、浴室などのピンク色のぬめりの原因菌
日和見感染 (髄膜炎、敗血症、菌血症、腹膜炎) において検出されたとの報告		リンパ腫に罹患した小児の菌血症発症例で検出されたとの報告

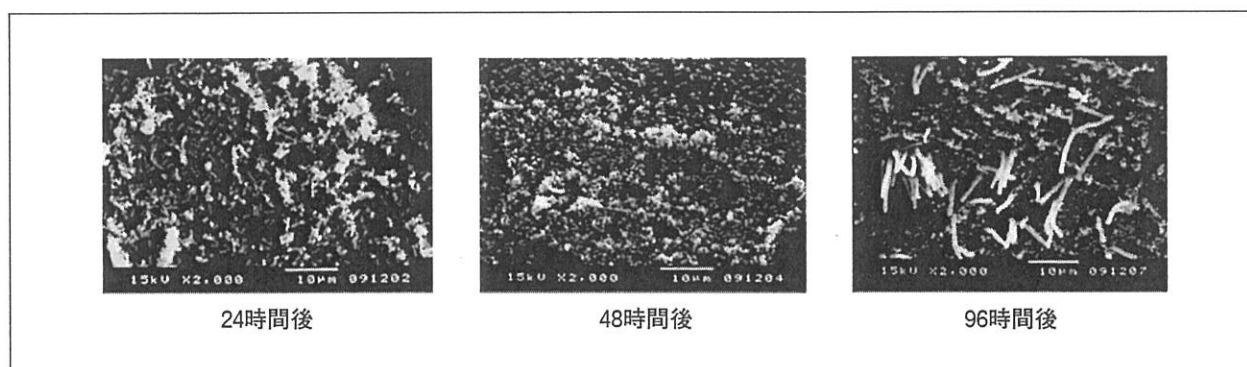


図4 3種の細菌の混合懸濁液中で培養後のチューブ内面

月間のユニット使用後に給水チューブ内面で観察されるものと類似のバイオフィームが得られることを見出した(図4)。また、24, 48時間培養後の様子から、桿菌がはじめにチューブ表面に付着して層をつくるのが分かり、給水系チューブのバイオフィーム形成は、桿菌の初期付着、凝集に続き、それを足場として糸状菌の付着が起こるというプロセスであることが分かった(図5)。

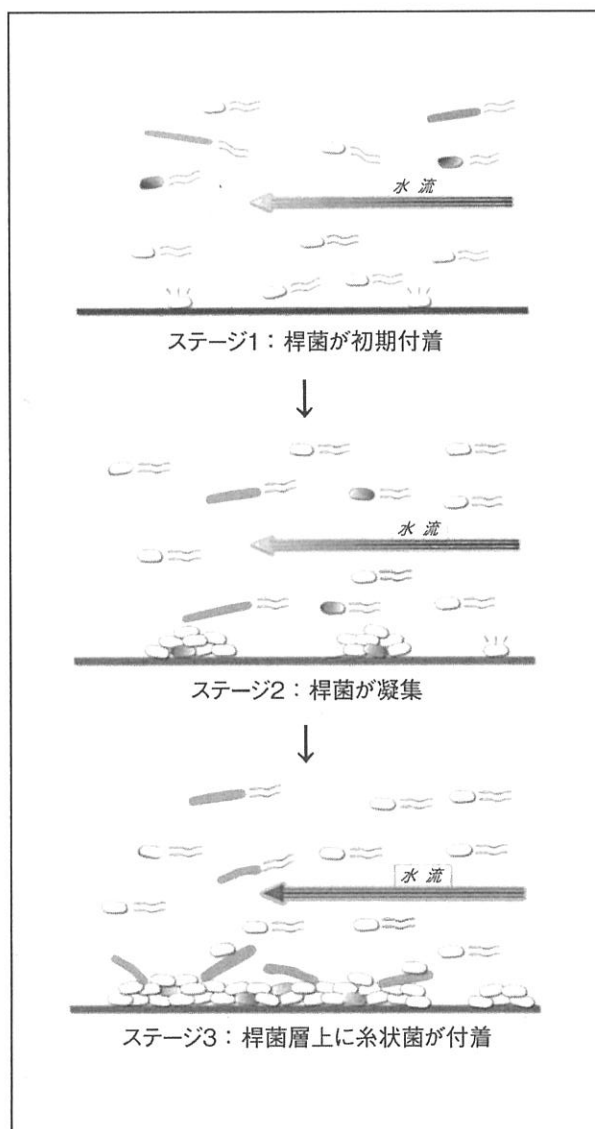


図5 給水系におけるバイオフィーム形成プロセス

4. フッ素コートチューブによるバイオフィーム形成抑制効果

給水系の汚染がチューブ内面でのバイオフィーム形成に起因しているのであれば、当然、汚染対策のひとつとして、細菌の付着が起こりにくい素材のチューブの使用が考えられる。そこで、われわれは、フッ素樹脂の一種である Polyvinylidene fluoride (PVDF) で内面をコーティングしたチューブ(以下、フッ素コートチューブ)のバイオフィーム形成阻害効果について検討した。

物質は、分子間の相互作用によってそれぞれの分子が有するポテンシャルエネルギーを低下させる形で安定しているが、物質の内部の分子に比べて表面に存在する分子はポテンシャルエネルギーの低下が少ない。

球形分子を例にとると、表面に存在する分子のエネルギーの低下量は周囲全体を取り囲まれている内部の分子の4分の3であり、4分の1だけ内部の分子よりも多くの量のエネルギーを持つことになる。これが表面自由エネルギーに相当し、その値が大きい表面ほど他の分子との間で引き合う力が強くなる。

すなわち、ある物質表面と細菌の相互作用を考えた場合、表面自由エネルギーの大きい物質ほど細菌細胞との分子間力(いわゆるvan der Waals力)が大きくなり、付着が生じやすくなる。したがって、表面自由エネルギーが小さいPVDF樹脂(表2)では、非特異的な付着抑制効果が期待できるのである。

まず、バイオフィーム形成に関与する *S. paucimobilis*, *A. haemolyticus*, *M. mesophilicum* の3種の細菌の単一培養系で、ユニットに一般的に使用されているウレタン樹脂製チューブとフッ素コートチューブでの細菌付着を調べたところ、いずれの細菌とも、フッ素コートチューブではウレタンチューブよりも有意に付着が少

表2 各チューブの表面自由エネルギー

	表面自由エネルギー (mJ/m ²)
ウレタンチューブ	77.8
フッ素コートチューブ	37.7

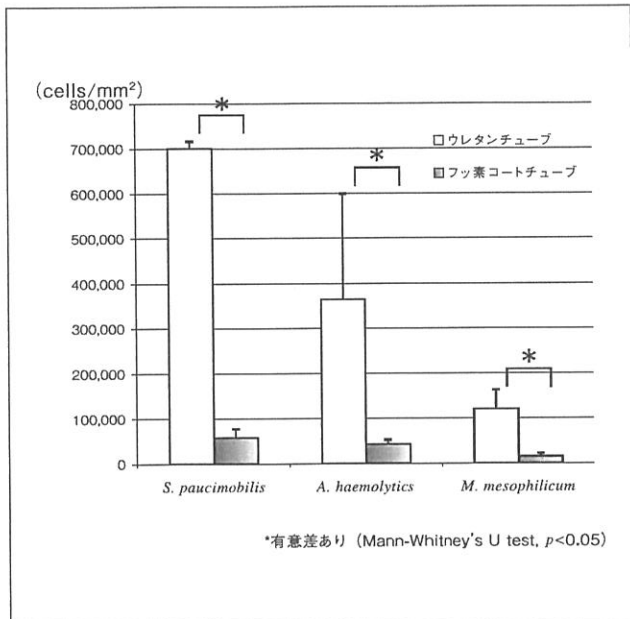


図6 各細菌のウレタンおよびフッ素コートチューブへの付着性

ないことが分かった (図6)。さらに、先に確立した3種の細菌の混合培養系でのバイオフィーム形成モデルを用いて実験を行ったところ、フッ素コートチューブの場合は、96時間培養を行ってもウレタンチューブで観察されたような成熟したバイオフィームの形成は認められず (図7)、フッ素コートチューブの使用が汚染予防に有効であることが強く示唆された。

5. フッ素コートチューブの臨床的な汚染防止効果

前述の *in vitro* のモデル実験でみられたフッ素コートチューブのバイオフィーム抑制効果が臨床的に有効かどうかを調べるため、新規に導入したチェアユニットに従来型のウレタンチューブまたはフッ素コートチューブを搭載して臨床使用し、チューブ内面の観察を行った。まず、ウレタンチューブでは、約50日を経過した時点ですでに凝集した桿菌と糸状菌の付着が認められた (図8)。この所見は、ユニット使用開始から6週間後にはチューブ内面に細菌塊が観察されたという以前の報告⁸⁾とも一致している。そして、約3ヵ月後には菌体外マトリックスを伴うバイオフィームの形成が観察され、その後、成熟が進んで約6ヵ月後にはチューブ内面全体がバイオフィームで覆われる状態となった。

一方、フッ素コートチューブでは明らかに細菌付着が抑制されており、約6ヵ月間経過してもなお少量の桿菌の付着が認められるのみで、成熟したバイオフィームの形成は観察されなかった (図9)。

また、フッ素コートチューブの使用により、実際にハンドピースから放出される細菌の量が減少することを確認するため、一日の診療開始前に、前述の2つのユニットから放出される細菌数をR2A培地を用いて経時的に調べた結果が図10である。ウレタンチューブ搭載ユニットでは、約60日間経過後も放出菌数が増加

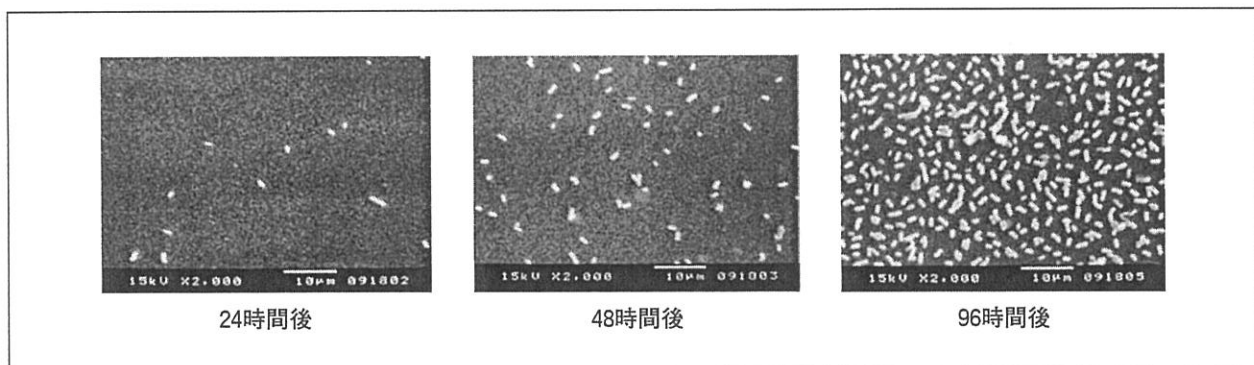


図7 フッ素コートチューブを3種の細菌の混合懸濁液中で培養後の内面

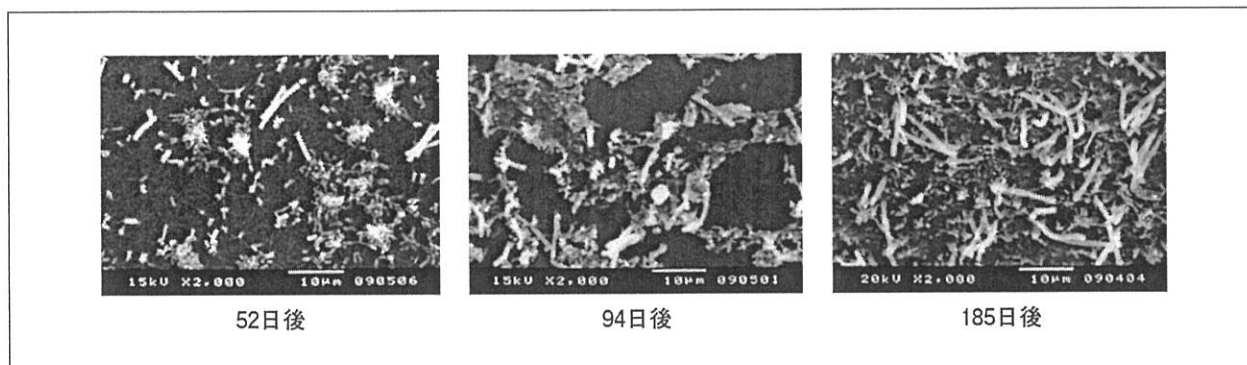


図8 臨床におけるウレタンチューブ内面でのバイオフィーム形成

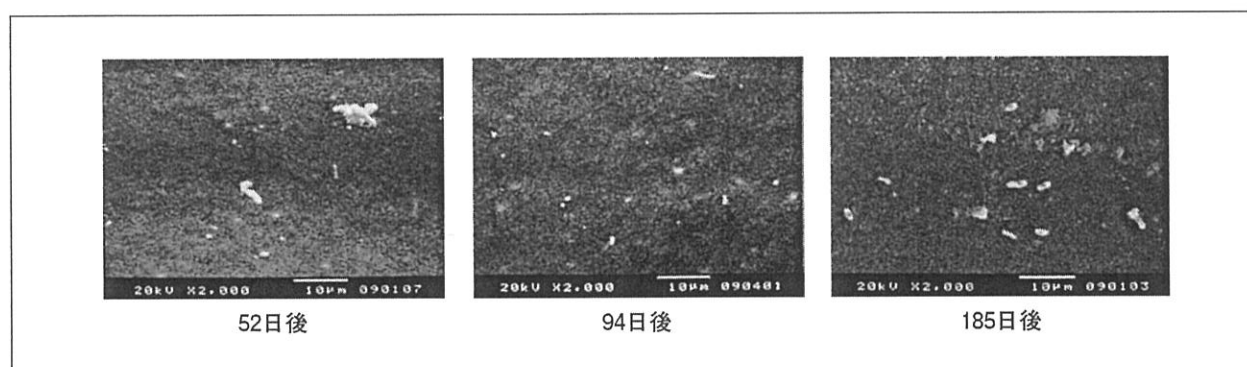


図9 臨床におけるフッ素コートチューブによるバイオフィーム形成抑制

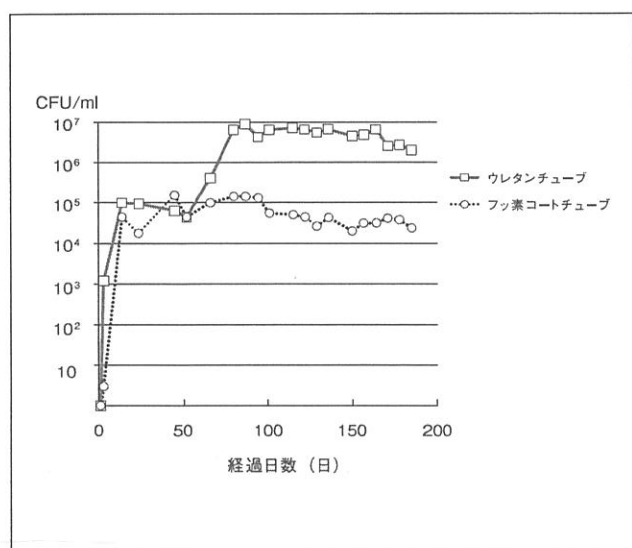


図10 ウレタンまたはフッ素コートチューブ搭載ユニットからの放出細菌数

し、明瞭なバイオフィーム形成が観察された3ヵ月以降では $10^6 \sim 10^7$ CFU/ml レベルになった。これに対して、フッ素コートチューブを搭載したユニットから放出される細菌数は、約60日まではウレタンチューブと同様に増加するものの、それ以後は菌数が増加せず、ウレタンチューブの場合よりも明らかに少なかった。

これらの研究結果は、チューブ内面でのバイオフィーム形成がユニットの使用開始から3ヵ月程度で確立し、細菌放出の温床となっていること、および細菌付着の少ないフッ素コートチューブの場合にはバイオフィーム形成が抑制され、細菌の放出量を低減できることを示している。

ところで、水道水中には通常0.1ppmの遊離残留塩素が含まれており、この塩素の効果によって水中に含まれる細菌の増殖が抑制されている。しかし、ウレタンチューブは塩素イオンの吸着が起りやすい⁹⁾た

め、残留塩素濃度が低下しやすく、細菌が増殖しやすい環境をつくり出すものと推察される。これに対して、PVDFによりコートしたチューブは化学的に安定で塩素イオンの吸着が生じにくい。フッ素樹脂ではウレタン樹脂の約400倍もの長期間にわたって水道水中の塩素濃度が維持されたことが報告されている¹⁰⁾。したがって、フッ素コートチューブでは、ウレタンチューブよりも滞留水中での細菌の増殖そのものがある程度抑えられた可能性も考えられ、この作用もバイオフィルムの形成抑制の一助として働いたのかもしれない。

6. おわりに

ユニット給水系チューブ内面に形成されるバイオフィルムは、水道水由来の細菌によるものであり、決してそれほど危険なものではない。とくに、良質な水が供給されているわが国では、水質の劣る海外で行われているような重点的な汚染対策までは必要でないかもしれない。また、デンタルユニット給水系から放出された細菌によって感染症が発症したという報告は今までのところなく、可能性のある感染経路は主に口腔咽頭粘膜であるため、透析装置等でのリスク指標などは直接あてはまらないと言える。

こういったことから、現在のところ、わが国においてどの程度の対策を講じるべきかの基準を明確にすることは困難である。現時点では、あくまでも易感染性宿主に対する日和見感染の“リスクを低下させる”という意味での汚染対策の意義が強調されるべきであろう。ただし、給水系チューブ内面に一旦形成されたバイオフィルムは、薬剤洗浄などのかなり強力な手段を取らなければ完全には排除できないことも事実である。

フッ素コートチューブ以外にも、いくつかの汚染防止対策が提案されており¹¹⁾、今後の明確なガイドラインの登場を待ちつつ、現在可能な対策をプレコーションとして実践していくことが重要ではないだろうか。

参考文献

- 1) 鳥居光男, 安永哲也, 横田若生, 今里 聡, 河合啓次, 土谷裕彦: エアータービンハンドピースの内部汚染-現状とその防止-. 日本歯科保存学雑誌, 30: 1100~1106, 1987.
- 2) Mayo, J. A., Oertling, K. M., Andrieu, S. C.: Bacterial biofilm: A source of contamination in dental air-water syringes. *Clinical Preventive Dentistry*, 12: 13~20, 1990.
- 3) Mills, S. E.: The dental unit waterline controversy: defusing the myths, defining the solutions. *Journal of American Dental Association*, 131: 1427~1441, 2000.
- 4) Yabune, T., Imazato, S., Noiri, Y., Ebisu, S.: Inhibitory effect of PVDF tubes on biofilm formation in dental unit waterlines. *Dental Materials*, 21: 780~786, 2005.
- 5) Yabune, T., Imazato, S., Ebisu, S.: Assessment of inhibitory effects of fluoride-coated tubes on biofilm formation using the *in vitro* DUWL biofilm model. *Applied Environmental Microbiology*, 74: 5958~5964, 2008.
- 6) Barbeau, J., Tanguay, R., Faucher, E., Avezard, C., Trudel, L., Côté, L., Prévost, A. P.: Multiparametric analysis of waterline contamination in dental units. *Applied Environmental Microbiology*, 62: 3954~3959, 1996.
- 7) 荒木孝二, 白井和弘, 毎熊容子, 黒崎紀正: デンタルユニット水ラインの細菌汚染について. 日本歯科保存学雑誌, 43: 16~22, 2000.
- 8) Williams, H. N., Johnson, A., Kelley, J. I., Baer, M. L., King, T. S., Mitchell, B., Hasler, J. F.: Bacterial contamination of the water supply in newly installed dental units. *Quintessence International*, 26: 331~337, 1995.
- 9) 八木一枝, 玉澤かほる, 堀内 博: 歯科用ユニットの部位別にみた汚染状況. 日本歯科保存学雑誌, 28: 243~248, 1985.
- 10) 草野郁子, 玉澤かほる, 堀内 博: 歯科用ユニット給水系の汚染原因とその対策. 日本歯科保存学雑誌, 29: 412~421, 1986.
- 11) Coleman, D. C., O'Donnell, M. J., Shore, A. C., Swan, J., Russell, R. J.: The role of manufacturers in reducing biofilms in dental chair waterlines. *Journal of Dentistry*, 35: 701~711, 2007.