

キーワード

- ・デンタルユニット水ライン
- ・細菌汚染
- ・バイオフィーム

デンタルユニット水ラインの細菌汚染について

荒木 孝二 臼井 和弘

毎熊 容子 黒崎 紀正

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 全人的医療開発学系専攻

包括診療歯科学講座 総合診療歯科学分野

(主任：黒崎紀正教授)

(受付：平成11年11月1日)

Bacterial Contamination of Dental Unit Waterline

Kouji ARAKI, Kazuhiro USUI,

Yoko MAIKUMA and Norimasa KUROSAKI

Section of General Dentistry, Department of Comprehensive Oral Health Care,

Division of Comprehensive Patient Care, Graduate School, Tokyo Medical and Dental University

(Chief : Prof. Norimasa KUROSAKI)

5-45, Yushima 1-chome, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8549, Japan

(Received for Publication : November 1, 1999)

A number of studies have been conducted in the United States, but not in Japan, regarding microbial contamination of dental unit waterline (DUWL). In the present study, five typical dental units used for ordinary dental care at University Hospital, Faculty of Dentistry, Tokyo Medical and Dental University were selected for observation. Water samples were collected at the water sterile filter outlet in the unit pipe box and the end of the handpieces and the three-way syringe before start and after completion of work on Monday. They were cultured to detect viable bacteria and specific bacteria and to identify dominant bacteria. Moreover, the turbine tube was removed to observe internal wall with a Scanning Electron Microscope (SEM).

The results were as follows :

1. Before starting operation on Monday, the mean of viable bacteria count was 6.6×10^3 CFU/ml at the filter outlet, 2.4×10^5 CFU/ml at the end of each handpiece, and 3.6×10^5 CFU/ml at the end of three-way syringe.

2. After the use of the unit on the same day, the mean of viable bacteria count was reduced to 6.5×10^3 CFU/ml at the filter outlet, 4.1×10^4 CFU/ml at the end of each handpiece, and 1.2×10^5 CFU/ml at the end of three-way syringe.

3. No deleterious bacteria (*Legionella*, *Streptococcus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Escherichia coli*) were detected. Among viable bacteria detected, the following were identified as dominant bacteria : *Sphingomonas paucimobilis*, *Methylobacterium mesophilicum*, and *Pseudomonas stutzeri*.

4. The formation of a biofilm was noted all over the inner wall of the water line tube observed by SEM.

In the present study, there were no apparently deleterious bacteria but large numbers of viable bacteria were detected in DUWL. These results indicate that appropriate measures should be quickly taken to prevent bacterial contamination in DUWL.

(Request original article reprints to Dr. ARAKI)

緒 言

米国ではいくつかの調査研究報告¹⁻³⁾により、デンタルユニット水ラインの細菌汚染が明らかになってきている。細菌汚染対策についても American Dental Association (ADA) の推奨⁴⁾により 2000 年までにデンタルユニット水ラインの細菌数を 200 CFU/ml (CFU: colony forming unit) 以下にする努力がなされている。一方、日本においては、タービンあるいはマイクロモーターのハンドピースを使用ごとに滅菌するシステムがようやく普及したのが現状であり、デンタルユニット水ラインの汚染についての考慮はほとんどなされていないし、その実態も明らかにはなっていない。そこで今回、歯科治療に使用されるデンタルユニット水ラインについての細菌汚染の実態を調査した。

材料および方法

1. 水ラインからのサンプリング

東京医科歯科大学歯学部附属病院第二総合診療室において、通常の歯科治療に使用されているデンタルユニットのうち、被験ユニットを5台選択した(表1)。月曜始業前(午前8:30)と日内変動をみる目的で同日の終業後(午後4:30)に、水ラインの各使用部位で水を滅菌採取容器へ無菌的に50~100 ml 採取した。水を採取した部位は ① 配管ボックス中の水除菌フィルター出口側と ② タービン ③ マイクロモーター ④ 術者側シリンジ ⑤ 助手側シリンジの各末端5カ所であった(図1)。なお、① 以外については水を容器に採取する前に、約10秒間フラッシングを行った。

2. 生菌数の測定

水中細菌を効率良く培養・検出する目的で低栄養の R2A 寒天培地^{5,6)}にて 25°C で7日間培養し、培地上

に生育したコロニー数をカウントした。この場合、培地上に生育したコロニー数が30個以上300個未満のプレートのカウントを採用し、コロニー由来の希釈液のサンプル原液希釈率を用いて CFU/ml を換算した。

3. 優勢なコロニーの菌種同定

2. で R2A 寒天培地に生育したコロニーを任意に選択し、形態観察および性状分析から同一菌種と考えられる菌株をグループ分けし、各グループのなかから1株選択し、Bergey's Manual⁷⁾ とグラム陰性桿菌同定キット API 20 NE (bioMérieux sa, France) を用いて、優勢菌について簡易同定を行った。

4. 特定菌種(属)の培養・検出

生菌数の測定と同時に特定菌 (*Legionella*, *Streptococcus*, 緑膿菌, 大腸菌) の検出を行った。各菌種ごとの培養・検出法は、*Legionella* については遠心分離・塩酸-塩化カリウム処理後 WYO α 培地(栄研化学)で *Legionella* 特有の灰白色のコロニーの出現を観察した。*Streptococcus* 属については、Mitis Salivarius 培地(DIFCO)に平板培養することにより検出した。緑膿菌については、アスパラギンブイオンを用いた MPN (最確数) 算出法により求めた。大腸菌については乳糖ブイオン発酵管(栄研化学)を用いた MPN 算出法で菌数を求めた。

以上の生菌数の測定、優勢菌の同定および特定菌種(属)の検出については、(財)日本食品分析センター微生物研究課に依頼した。

5. 水ラインチューブ内壁の走査電子顕微鏡観察

水を採取したデンタルユニットのなかから代表でタービン用水ラインチューブ1本を取り外した。患者側に近いチューブ断片と配管側近くのチューブ断片を、2.5% グルタルアルデヒド-リン酸食塩緩衝液で2時間、4°C で固定し、その後段階的に濃度を高めたエタノール水溶液(50→70→90→95→99.5%)で脱水操作を行った。乾燥後、液体窒素中で断面を作り、白金パラジウムにて蒸着後、走査型電子顕微鏡(SEM, ABT-15 S, Topcon)で、断面および内壁表面を観察、写真撮影を行った。

結 果

1. 一般細菌の生菌数測定

月曜始業前では、配管ボックス内の水除菌フィルター後で平均 6.6×10^3 CFU/ml、各ハンドピースの

表 1 被験ユニット一覧

ユニット No	ユニット使用開始年月	ユニット名
No. 8	1995年12月	
No. 9	1994年12月	5台とも
No. 10	1995年12月	エクシード PXX II
No. 11	1995年12月	(株)ヨシダ製作所
No. 24	1994年12月	

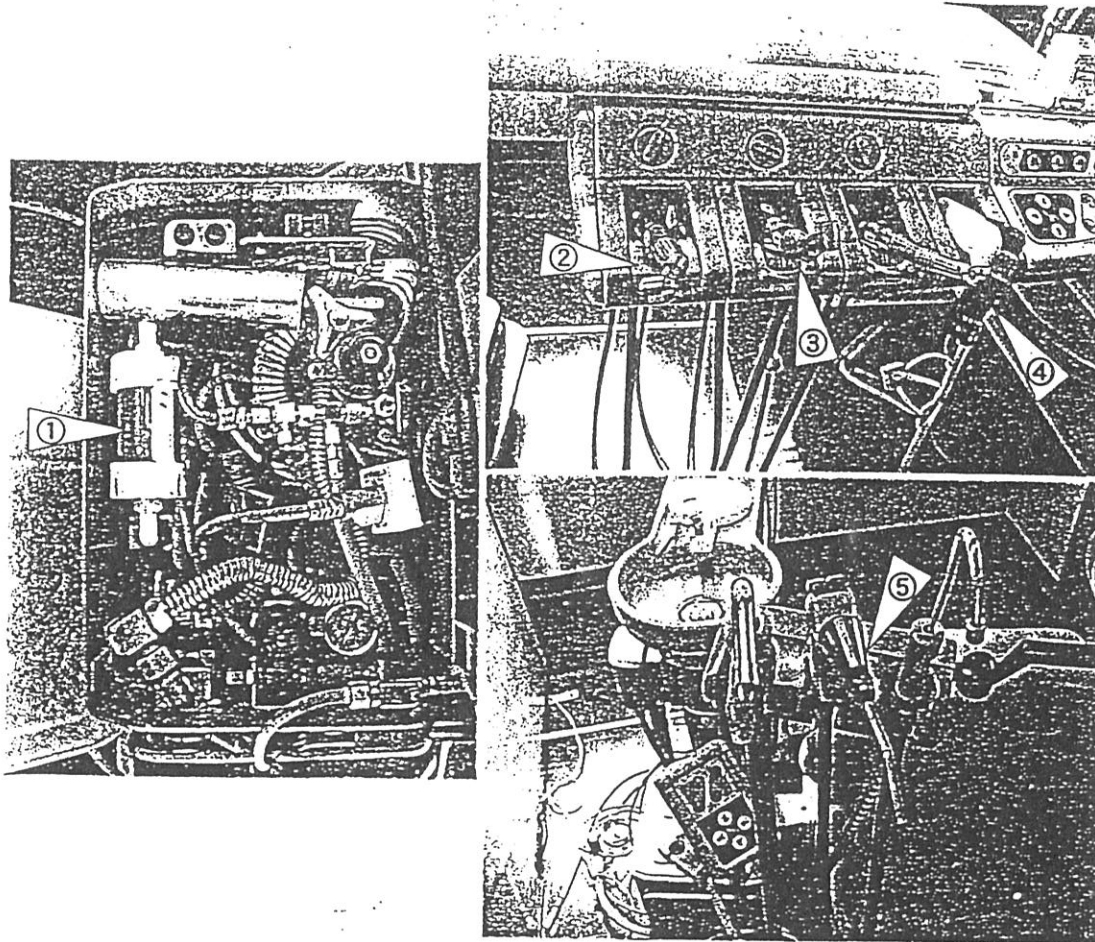


図1 デンタルユニット水ライン 水採取部位

- ① 配管ボックス内水除菌フィルター出口
- ② エアータービン末端
- ③ マイクロモーター末端
- ④ スリーウェイシリンジ末端(術者側)
- ⑤ スリーウェイシリンジ末端(助手側)

末端では、タービンとマイクロモーターで若干の差があったが平均 2.4×10^5 CFU/ml, スリーウェイシリンジ末端では平均 2.8×10^5 CFU/ml(術者側)および 5.0×10^5 CFU/ml(助手側)であった。日中のユニット使用後、月曜終業後において水除菌フィルター後で平均 6.5×10^3 CFU/ml, ハンドピースで平均 4.1×10^4 CFU/ml, スリーウェイシリンジ末端で平均 2.6×10^4 CFU/ml(術者側)および 2.1×10^5 CFU/ml(助手側)となった。

日内変動として比較した場合(表2, 図2), 水除菌フィルター後は生菌数にほとんど変化はなく, 術者側スリーウェイシリンジ末端が朝の約 1/10 と最も減少し, 次いでマイクロモーター末端, タービン末端の順で減少していた。助手側のスリーウェイシリンジ末端は朝の約 1/2 と最も生菌数の減少率が低かった。ま

た, 水除菌フィルター後よりも下流のハンドピース末端およびスリーウェイシリンジ末端のほうが生菌数が高い傾向にあった。

2. 優勢菌の同定

生育したコロニーを任意に多数分離し, 形態観察, 性状分析から同一菌種と考えられる菌株をグループ分けし, 各グループのなかから代表の1株を選択し, グラム陰性桿菌の簡易同定を行った結果, *Sphingomonas paucimobilis*, *Methylobacterium mesophilicum*, *Pseudomonas stutzeri* の3菌種が同定された(表3)。

3. 特定菌種の検出

目的とする菌(属)により, スクリーニング法が異なり, 各スクリーニングに使用するサンプル量も異なったことから, 検出感度はその条件に依存した。いずれ

表 2 水ライン各使用部位別における測定生菌数(CFU/ml：平均±SD)

	始業前	終業後
水除菌フィルター出口	$6.6 \times 10^3 \pm 4.1 \times 10^3$	$6.5 \times 10^3 \pm 9.3 \times 10^3$
タービン末端	$2.2 \times 10^5 \pm 3.2 \times 10^5$	$4.5 \times 10^4 \pm 3.7 \times 10^3$
マイクロモーター末端	$2.5 \times 10^5 \pm 1.1 \times 10^5$	$3.6 \times 10^4 \pm 9.8 \times 10^3$
術者側スリーウェイシリンジ末端	$2.8 \times 10^5 \pm 1.2 \times 10^5$	$2.6 \times 10^4 \pm 1.9 \times 10^4$
助手側スリーウェイシリンジ末端	$5.0 \times 10^5 \pm 4.4 \times 10^5$	$2.1 \times 10^5 \pm 2.6 \times 10^5$

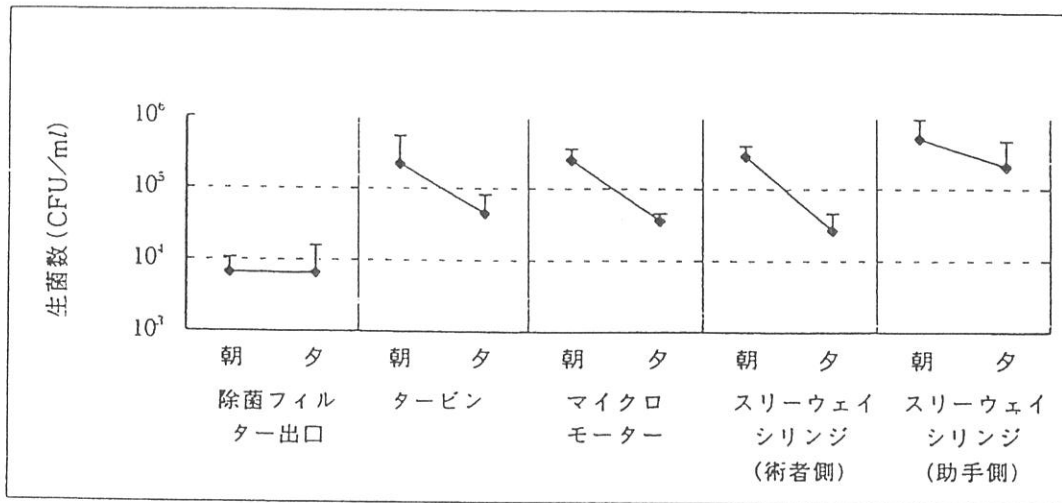


図 2 水採取部位別生菌数の日内変動

表 3 デンタルユニット水ライン中の優勢菌の同定結果

分離同定菌	形態	グラム染色性	胞子形成	好・嫌気性	運動性	オキシダーゼ	カタラーゼ	集落の色調	粘性集落の形成	文献
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	桿菌	-	-	好気性	-	+	+	黄～オレンジ	-	9)
<i>Methylobacterium mesophilicum</i>	桿菌	-	-	微好気性～好気性	+	+	+	ピンク	-	10)
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	桿菌	-	-	好気性	+	+	+	*	+	11)

*：特徴的集落色素は形成しない

にしてもサンプリングできた量の限界から検出感度はそれほど高くなかった (*Legionella* : $\geq 0.33 \sim 0.66$ CFU/ml, *Streptococcus* : ≥ 1 CFU/1 ml, 緑膿菌 : ≥ 30 CFU/100 ml, 大腸菌 : ≥ 30 CFU/100 ml) が、それぞれの検出感度の範囲内において、*Legionella*, *Streptococcus*, 緑膿菌, 大腸菌は全く検出されなかった。

考 察

デンタルユニット水ライン中の細菌汚染状態を調べるために、週末のライン停止中に水の滞留により最も細菌数が多いと予想される月曜日の始業開始前と、治療時における水の流動により、日内変動でどこまで細菌数レベルが変動するか把握するため、同日の終業後にサンプリングした。実際の患者の治療部位に曝露される菌数および菌の種類を把握するため、各測定ラインの末端から水を採取した。同時に、ユニット入口の水ラインの代表として配管ボックス内の水除菌フィルター出口からも水を採取した。

4. エアータービンの水ラインチューブ内面のSEM観察

患者側、配管ボックス側のいずれのチューブ内壁からも、ある程度の厚みを持ち、一面に広がる Biofilm が観察された(図3)。

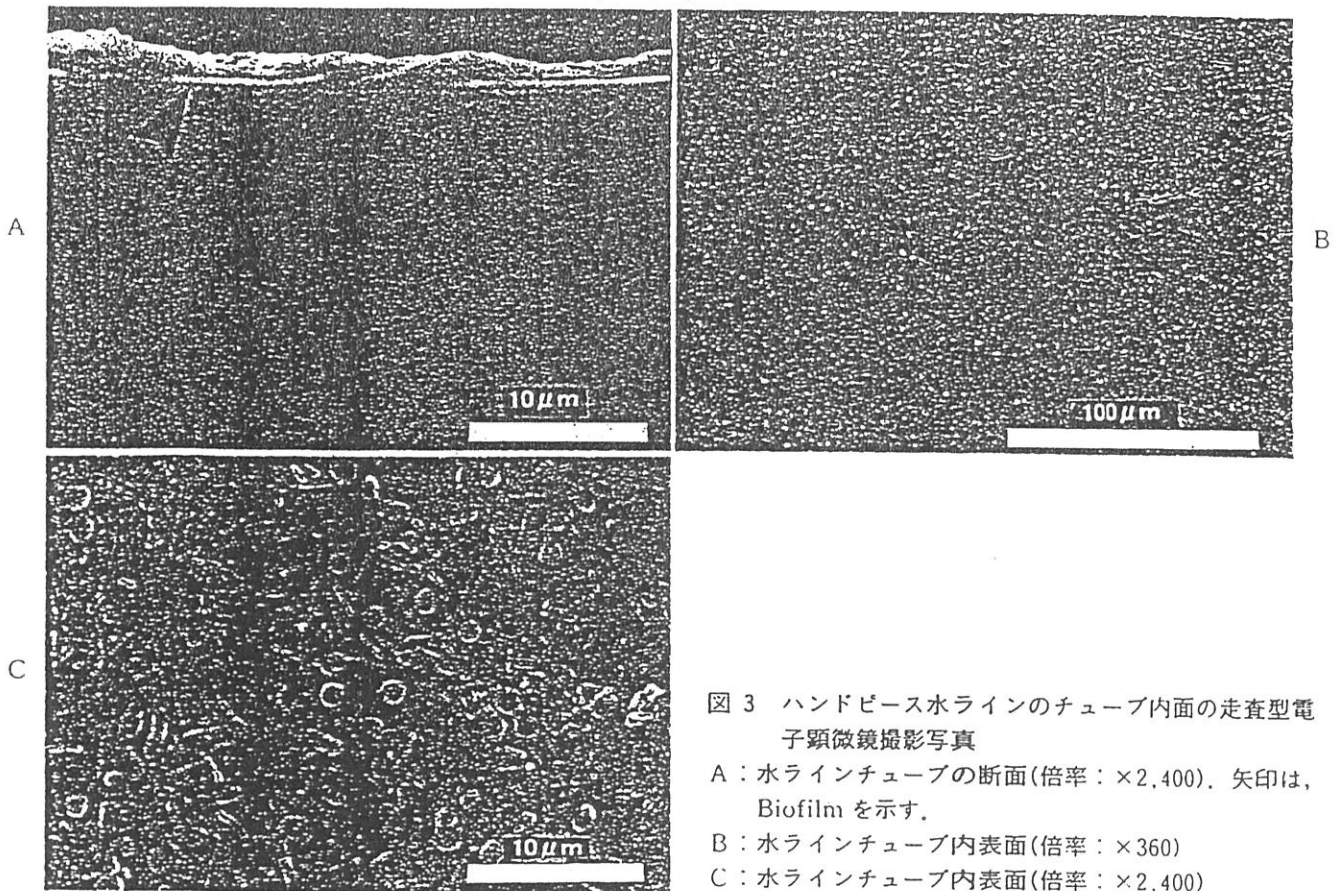


図3 ハンドピース水ラインのチューブ内面の走査型電子顕微鏡撮影写真

- A: 水ラインチューブの断面(倍率: $\times 2,400$). 矢印は、Biofilmを示す。
 B: 水ラインチューブ内表面(倍率: $\times 360$)
 C: 水ラインチューブ内表面(倍率: $\times 2,400$)

各部位における水中の細菌数の日内変動をみると(表2, 図2), チェアごとにわずかな差はみられるが, 傾向として, 月曜日始業前にはハンドピース末端において $10^5 \sim 10^6$ CFU/ml 程度の生菌が検出された。これらは日中のユニット稼働によってフラッシングされるにもかかわらず $1/2 \sim 1/10$ 程度しか減少しなかった。

また, 予備実験においてユニットに供給されてくる水道水の生菌数として, 同じ診療室内の手洗い水道水を調べた結果, 月曜日の朝始業前で 4.5×10^4 CFU/ml, 同日の夕方終業後で 3.8×10^2 CFU/ml であった。今回サンプリングした水ラインには, すべてのユニットの配管ボックス内に中空糸素材の水除菌フィルター ($0.1 \mu\text{m}$) が設置されているが, 測定した始業前および終業後のどちらにおいても, ユニットに供給されてくる水道水よりも数オーダー細菌数が増加したままであることがわかった。この理由として, 米国などで報告されている^{12,13)}水ラインチューブの内壁に菌の棲家となる Biofilm などの存在が想定された。そこで, 水ラインチューブを取り出し内表面の SEM 観察を行った。その結果, 予想通りホース内面に Biofilm

の形成が患者側, 配管ボックス側両方に認められたことから, ほぼホース内面全体に一樣にこのような Biofilm が形成され, 容易にクリーンアップされない菌の生息場所となっていると思われた。

R2A 寒天培地にてデンタルユニットの水から回収された菌のうち大多数の菌種を調べたところ, *Sphingomonas paucimobilis*, *Methylobacterium mesophilicum*, *Pseudomonas stutzeri* などが同定されたが, 口腔内に常在している細菌は検出されなかった。これは, 今回調査した5台のユニットのエアタービンにはすべて逆流防止装置がついていたため, タービンおよびマイクロモーターヘッドとも患者治療ごとにすべて滅菌消毒するシステムであること, およびスリーウェイシリンジは末端に治療ごとの使い捨てチップを使用しているためと思われる。*Sphingomonas* は黄色色素を生成し, 細胞膜にスフィンゴ糖脂質を有することが特徴の菌であり, *Sphingomonas paucimobilis* は水や感染症の患者からの分離例が報告⁹⁾されている。*Methylobacterium* は非発酵性グラム陰性桿菌であり, 水や土壌などの自然界に分布している。*Methylobacterium mesophilicum* はピンク色の非水溶性色素を