



Title	歯科診療空間における環境汚染に関与する口腔内由来の微生物の調査
Author(s)	阪本, 敬
Citation	大阪大学, 2025, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/101567
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

氏 名 (阪 本 敬)	
論文題名	歯科診療空間における環境汚染に関与する口腔内由来の微生物の調査
【緒言】 感染拡大防止のためには、感染経路の把握が不可欠である。特に歯科診療室は、ハンドピースによる歯科処置によりエアロゾルや飛沫が発生するリスクが高まりやすい環境である。そのため、感染リスクが高まった際の迅速な対応や診療室内での微生物の飛散状況を把握することが重要である。これまでも診療室内の汚染状況を調査した論文はあるが、実際の歯科治療による汚染と人の移動など診療以外の要因による汚染との区別が十分に行われていない。本研究では、診療室内の微生物解析を行い、汚染の指標となる微生物を特定することで、歯科診療による口腔からの汚染の広がりを把握することを目的とした。 【方法】 1：診療室内における汚染状況の調査 汚染の指標として全ての生物の細胞に含まれている物質であるATPを用いることとした。対象は障害者歯科個室診療室の壁や床、歯科ユニットなど計18か所とし、ぬぐい取りによるATP測定を行った。測定は1日の診療開始前8時45分ごろと診療終了後16時30分ごろに同一人物が合計42回行った。ATPふき取り検査用試薬で測定箇所を直径約5cmの円状に3周ぬぐい取り、ATP測定用ルミノメーターを用いてATP量の測定を行った。診療前後のATP量について、Wilcoxonの符号付き順位和検定を行った。 2：スピットンの微生物解析 ATP測定の結果を元に、口腔由来の汚染の指標となる微生物を調査するため、診療後に最もATP量が増加したスピットンに存在する微生物の解析を行った。診療後16時半ごろのスピットンを抗生物質検定用ペーパーディスクで直径約5cmの円状に3周ぬぐい取り、ダルベッコリン酸緩衝生理食塩水500 μ Lで微生物を抽出した。大阪大学微生物病研究所に抽出液の微生物解析を委託した。解析は全6回行った。解析結果を属レベル、種レベルで分析した。 3：診療室における汚染の指標の分布調査 <i>Fusobacterium nucleatum</i> (以降<i>F. nucleatum</i>)は多くの人が保有している口腔内に常在するグラム陰性菌である。<i>Streptococcus infantis</i> (以降<i>S. infantis</i>)は口腔内に常在するグラム陽性菌である。グラム陰性菌はグラム陽性菌と比較しペプチドグリカン層が薄いので、PCRを行う際に比較的容易にDNAの抽出が可能である。そのため、グラム陰性菌はグラム陽性菌と比較してPCRでの検出感度が高い傾向がある。これらの特徴と菌叢解析の結果を元に、口腔内細菌検出装置を用いて診療室で<i>F. nucleatum</i>の検出を行った。対象は実験1でATP量の上昇した場所や診療で使用した探針、エキスカバーター、ミラー、フロス、ラバーカップ、フッ化物歯面塗布に使用する綿棒、バキュームチップとした。各箇所を抗生物質検定用ペーパーディスクで拭き取り後、ダルベッコリン酸緩衝生理食塩水500 μ Lで微生物を抽出し、抽出液2 μ Lをプライマーを含む溶液に滴下後口腔内細菌検出装置でPCRを行った。	

【結果】

1：診療室内における微生物の多い箇所の調査

診療後にスピットンで最も微生物量が上昇した。

診療室床面、口腔外バキューム表面、ヘッドレスト、スピットンを含む10箇所では診療後にATP値が有意に上昇した。中でもスピットンにおけるATP量が最も上昇した(前:1190, 後:3139)。壁面では全て有意差を認めなかった。壁際のサイドテーブル上面や室内用空気清浄機表面では有意差は認めなかった。

2：関連微生物の解析

スピットンにおいて、口腔由来の微生物として*F. nucleatum*と*S. infantis*が高頻度に検出された。

菌叢解析の結果、属レベルでは*Streptococcus*属や*Sphingobium*属、*Methylobacterium*属などの細菌属が検出された。種レベルでは、腸内細菌や口腔細菌、土や水に含まれる環境由来の菌など様々な菌種が合計172種類検出された。そのうち口腔内由来の細菌の中でも、*F. nucleatum*と*S. infantis*は6回中5回と高頻度に検出された。

3：口腔由来の微生物に着目した汚染度の評価

診療で使用された器具から*F. nucleatum*が高頻度に検出された。

口腔内で使用した器具からは*F. nucleatum*が高頻度に検出され、中でもラバーカップから最も高頻度に*F. nucleatum*が検出された(測定値平均:1954, 標準偏差:713)。診療室内の環境については、スピットンやヘッドレストからは*F. nucleatum*が検出された。一方、床面や口腔外バキュームからは*F. nucleatum*は検出されなかった。

【考察】

診療前後におけるATPの上昇から、スピットンが歯科診療により最も汚染される部位であると考えられる。スピットン表面に存在する菌について、*Streptococcus*属は主に人の口腔内や皮膚に生息しており、口腔細菌やヒト常在菌が含まれていると考えられる。*Sphingobium*属や*Methylobacterium*属は主に水中や土壌に生息しており、環境由来の細菌であると考えられる。種レベルでは、口腔細菌の中でも*F. nucleatum*と*S. infantis*は高頻度に検出され、歯科診療による汚染の指標として有効であると考えられる。*F. nucleatum*は口腔内感染症に関与するグラム陰性の常在菌として知られており、幅広い世代の人が保持しているという報告もある。そのため*F. nucleatum*は歯科診療による汚染の指標の一つとして有用である可能性が示された。*S. infantis*は*mitis*族に属しており、近縁な細菌種が多数存在する。そのため、*F. nucleatum*はより正確に歯科診療による汚染を評価出来ると考えられる。

また、診療室の使用した器具や周囲の環境からも*F. nucleatum*が検出されたことから、*F. nucleatum*は歯科診療に伴う汚染の広がりが確認された。ただし今回の実験では、培養を行わずに*F. nucleatum*の検出を行ったため、サンプル採取後に培養することで今回検出されなかった場所にも*F. nucleatum*が検出される可能性がある。今後は培養後の評価や、他の細菌や真菌の指標としての有効性を確認し併用することでより包括的な汚染の広がりが把握できると考えられる。

【結論】

歯科診療の現場では、診療後にはスピットンで微生物量の増加が最も著しかった。スピットンの表面に付着している微生物の解析を行ったところ、口腔内由来の微生物として*Fusobacterium nucleatum*が歯科診療による汚染の指標となりうる可能性が示された。*Fusobacterium nucleatum*を汚染の指標の一つとして用いることで、診療で使用した器具や環境に対する口腔由来の汚染の広がりが確認された。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (阪 本 敬)		
	(職)	氏 名
論文審査担当者	主 査	准教授 秋山 茂久
	副 査	教授 川端 重忠
	副 査	教授 池邊 一典
	副 査	講師 大嶋 淳

論文審査の結果の要旨

本研究は、歯科診療室での汚染状況の調査、汚染箇所の微生物解析と汚染の指標となりうる微生物の探索を行うことで、歯科診療による口腔からの汚染の広がりを把握することを目的とした。

その結果、スピットンに最も微生物が多く、口腔細菌として *Fusobacterium nucleatum* は検出頻度が高く、指標の一つとして有効であることがわかった。

本研究は、*Fusobacterium nucleatum* を指標とすることで、歯科診療による汚染の広がりが把握することが可能であることを示したものであり、その臨床的意義は大きいと考える。よって、本論文は、博士（歯学）の学位論文として価値のあるものと認める。