The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	デンタルユニット給水系におけるPolyvinylidene fluorideチューブのバイオフィルム抑制効果
Author(s)	薮根, 敏晃
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45165
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。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

【36】

氏　　名	藪根敏晃（やぶねとしあき）
博士の専攻分野の名称	博　士（歯　学）
学位記番号	第　18607　号
学位授与年月日	平成16年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 歯学研究科分子病態口腔科学専攻
学位論文名	**デンタルユニット給水系におけるPolyvinylidene fluorideチューブのバイオフィルム抑制効果**
論文審査委員	（主査） 教　授　恵比須繁之 （副査） 教　授　雫石　聡　講　師　寺岡　文雄　講　師　北村　正博

論文内容の要旨

【研究目的】

近年、高齢者人口や易感染性宿主の増加に伴って院内感染の防止が重要視され、歯科領域においても、種々の診療用器材の汚染予防に強い関心が寄せられている。とくに、デンタルユニット給水系の汚染に関しては多くの研究が行われており、従来のウレタン製給水系チューブ内面でバイオフィルムが形成されることや、汚染されたユニットのハンドピースから多量の細菌が放出されることが報告されている。本研究では、簡便で効果的なデンタルユニット給水系汚染防止対策の確立を目的として、フッ素樹脂の一種であるPolyvinylidene fluorideで内面をコーティングしたチューブ（PVDFチューブ）を開発し、そのバイオフィルム抑制効果を臨床的および*in vitro*実験にて検討した。すなわち、PVDFチューブを搭載したユニットでの細菌の放出とバイオフィルム形成の抑制効果を実際の臨床使用下で検討するとともに、給水系におけるバイオフィルムをシミュレートした*in vitro*モデルを用いて詳細な検討を加えることにより、PVDFチューブのデンタルユニット給水系汚染防止対策としての有用性について評価を行った。

【方法】

Ⅰ．従来型チューブの臨床での汚染状況の検索

1）放出菌数の測定とチューブ内面の走査型電子顕微鏡（SEM）観察

2年6カ月間および9年間使用したデンタルユニットの給水系より水を採取し、R2A寒天平板培地を用いて細菌数の測定を行った。また、各ユニットのチューブの一部を採取し、内面をSEMにて観察した。

2）チューブ汚染原因菌の同定と*Legionella*の有無の検討

給水系より採取した水サンプルおよびチューブ内面に形成されたバイオフィルムサンプルをR2A寒天平板培地上で培養後、優勢なコロニーについて細菌種の同定を行った。また、水サンプル中における*Legionella*の有無をPCR法を用いて確認した。

Ⅱ．PVDFチューブの臨床における汚染防止効果の検討

新規に導入したユニットにウレタンチューブまたはPVDFチューブを搭載し、給水系から放出される菌数を185

日まで経時的に測定した。また、使用開始から52、94、157、185日間経過後に、各チューブ内面をSEMにて観察した。さらに、各ユニットを1年間使用した時点で、診療開始直前から7時間後までの一日の放出菌数の変動を調べた。

Ⅲ. *In vitro*でのバイオフィルムモデルを用いた汚染防止効果の検討

1) 給水系の汚染原因菌の付着に対する抑制効果の検討

実験Ⅰで給水系の汚染原因菌であると判定された *Sphingomonas paucimobilis, Methylobacterium mesophilicum, Acinetobacter haemolytics*の各菌液にウレタンチューブまたはPVDFチューブを浸漬し、25℃で24時間の静置培養後、付着菌数を計測した。

2) バイオフィルムモデルの確立とバイオフィルム形成抑制効果の検討

*S. paucimobilis, M. mesophilicum, A. haemolytics*の混合液にウレタンチューブを浸漬し、25℃で一定時間静置培養後、チューブ内面をSEM観察した。その結果から、臨床におけるユニット給水系のバイオフィルムをシミュレートできる培養条件を決定し、PVDFチューブを浸漬して培養後のバイオフィルム形成状態を観察した。

3) 表面自由エネルギーの測定

水、テトラブロモエタン、ジヨードメタンを用いて各チューブの接触角を測定し、表面自由エネルギーを算出した。

【結果】

Ⅰ. 従来型チューブの臨床での汚染状況の検索

1) 両ユニットとも、給水系から10^4～10^6 CFU/mlレベルの細菌が検出された。また、チューブ内面は糸状菌と桿菌で構成される成熟したバイオフィルムで覆われていた。

2) 優勢なコロニーを形成したのは*S. paucimobilis, M. mesophilicum, A. haemolytics*の3菌種であった。また、給水系から*Legionella*は検出されなかった。

Ⅱ. PVDFチューブの臨床における汚染防止効果の検討

ウレタンチューブを搭載したユニットでは80日まで放出菌数の増加が認められたが、PVDFチューブを搭載したユニットでは66日以降菌数の増加が認められないままほぼ一定の状態となり、185日後も放出菌数がウレタンチューブ搭載ユニットよりも有意に少なかった。また、SEM観察の結果、ウレタンチューブ搭載ユニットでは、94日後には桿菌と糸状菌で構成されるバイオフィルム形成が認められたが、PVDFチューブ搭載ユニットでは、185日後でも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ルムの形成は観察されなかった。

1年間使用したユニットでは、診療開始から3時間まで放出菌数が減少する傾向を示した後、ほぼ一定数の菌を放出することが分かったが、PVDFチューブ搭載ユニットでは常にウレタンチューブ搭載ユニットよりも放出菌数が有意に少なかった。

Ⅲ. *In vitro*でのバイオフィルムモデルを用いた汚染防止効果の検討

1) 3種のいずれの菌とも、PVDFチューブへの付着数はウレタンチューブよりも有意に少なかった。

2) 培養24時間後には、ウレタンチューブ内面に桿菌が凝集して多量に付着し、96時間培養後には桿菌層の上に糸状菌が付着している様子が観察され、臨床で形成されるバイオフィルム像と類似した状態が得られた。しかし、PVDFチューブでは、96時間培養後でも少量の桿菌の付着が観察されるのみで、成熟したバイオフィルムの形成は認められなかった。

3) PVDFチューブの表面自由エネルギーはウレタンチューブよりも小さかった。

【考察および結論】

従来のウレタン製チューブを搭載したユニットでは、時間経過と共に給水系の汚染が進行し、約3カ月後にはチューブ内面に成熟したバイオフィルムが形成されて多量の菌が放出されることが分かった。これに対し、PVDFチュー

ブでは、6カ月間経過後もバイオフィルムの形成が認められず、ウレタンチューブと比較して明らかに汚染が抑制された。また *in vitro* での実験から、給水系チューブのバイオフィルム形成は、まず、桿菌が凝集してチューブに付着し、それを足場として糸状菌の付着が起こるというメカニズムに基づくものであること、および表面自由エネルギーが小さい PVDF チューブはとくに桿菌の付着の抑制に有効に働き、その結果バイオフィルム形成を抑制することが明らかとなった。

以上のことから、PVDF チューブはデンタルユニット給水系におけるバイオフィルムの形成防止に効果的であり、汚染防止対策の一つとして有効であることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究は、Polyvinylidene fluoride チューブのデンタルユニット給水系におけるバイオフィルム抑制効果を、臨床的および *in vitro* 実験にて検討したものである。

その結果、Polyvinylidene fluoride チューブ搭載ユニットでは、使用開始から6カ月間を経過してもバイオフィルム形成が認められず、従来のウレタンチューブ搭載ユニットと比較して明らかに汚染が抑制されることが判明した。そして、*in vitro* 実験から、表面自由エネルギーの小さい Polyvinylidene fluoride チューブでは汚染原因菌の付着が阻害され、バイオフィルム形成が抑制されることが明らかとなった。

以上の研究結果は、デンタルユニット給水系における汚染防止対策としての Polyvinylidene fluoride チューブの有用性について貴重な知見を提供するものであり、本研究は博士（歯学）の学位授与に値するものと認める。