

環境マイクロバイオームの動態計測に基づく集団感染機構の解明と制御

研究背景

感染症の脅威

- ・ 感染症は運輸体系が構築され、人口密度が高い都市の最大の脅威のひとつ
- ・ 感染症を引き起こす細菌やウイルスなどの病原物質が、人の活動する環境中で拡散して生じるため、この拡散速度を制御する必要がある

計測の困難さ

- ・ 拡散速度を制御するためには、拡散物質（病原物質）を特定する必要があるが、この病原物質の同定が困難である

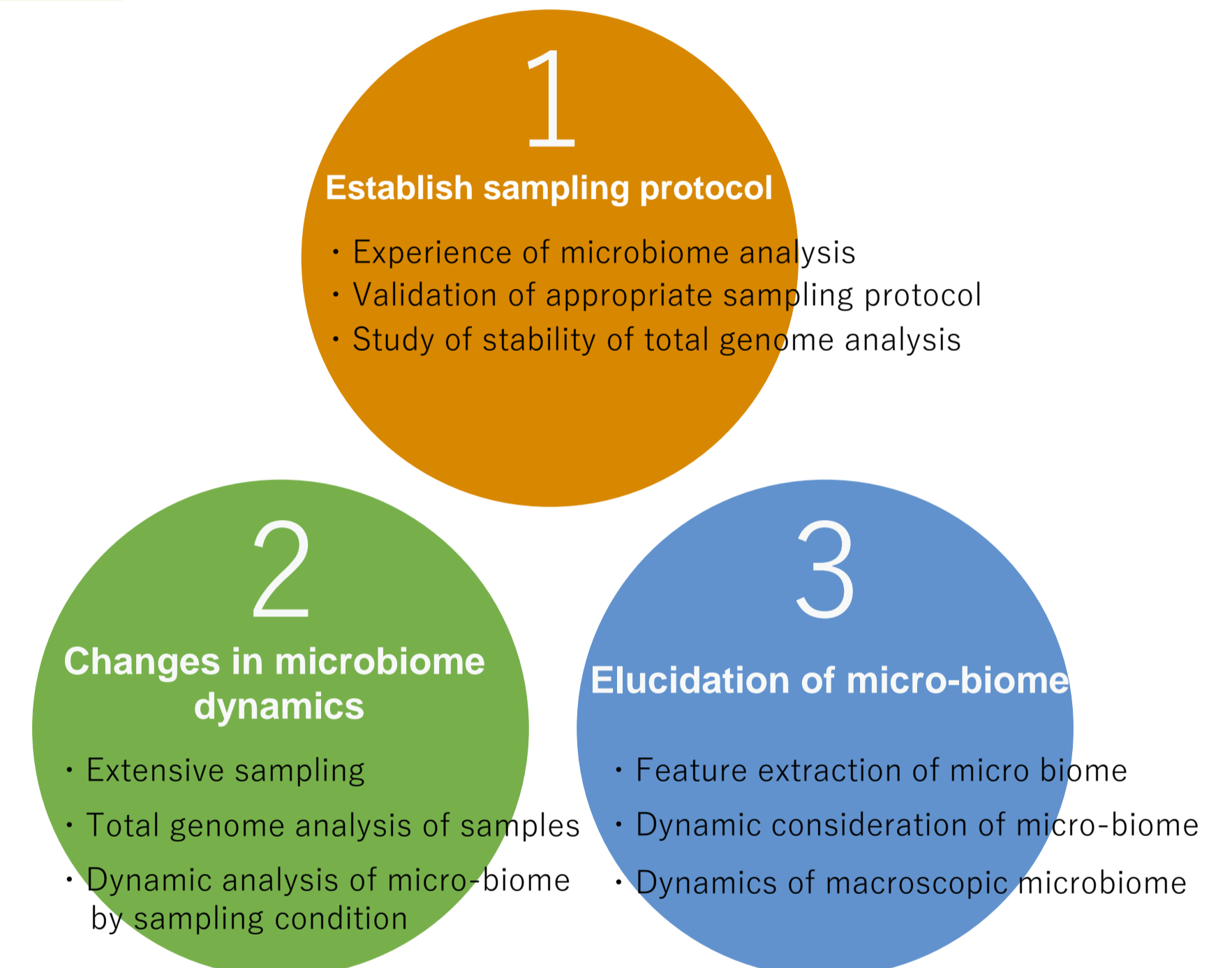
微生物叢（Microbiome）の導入

- ・ 人の体内、体表面の微生物叢解析によるメタゲノム解析から菌種や量を特定、培養ができないものも種別や量が特定できる

研究目的

建物環境中のマイクロバイオームは極めて希薄で、十分な遺伝子を確保したサンプリングが困難である。またサンプルに関するコンタミ対策が不可避と考えられるため、再現性の高い建築環境空間内でのマイクロバイオームのサンプル法、解析法を開発する。次に、人の行動観察より病原物質の伝搬を整理し、その結果を反映した人の行動シミュレーションにより病原物質の伝搬予測を行う手法を開発する。

ステップ



環境マイクロバイオームのサンプリング手法の検討

目的

- ・ 乳酸菌をトレーサーとして使用し、その遺伝子解析（リアルタイムPCR）により従来の培養による手法と比較して迅速に菌数を把握する。
- ・ 感染経路間での菌数を把握することで感染制御について考察を行う。

実験概要

使用乳酸菌：*Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* OLL1073R-1
 100倍希釈、10 μ l使用、10cm \times 10cmの板全体に塗布
 拭き取り方法：スワブ接触荷重 150g 採取面積 100cm²



SWAB

サンプル概要：R1:1回目拭き取り R2:2回目拭き取り
 R3:3回目拭き取り R10:希釈乳酸菌10 μ l直接抽出
 Swab R:スワブ先端に希釈乳酸菌10 μ l
 UV:乳酸菌塗布前にUV殺菌後1回拭き取り T:コンラージ棒拭き取り
 St6~3:スタンダードサンプル10⁶~10³ Neg:ネガティブコントロール

解析手法：リアルタイムPCR インターカレーター法

結果

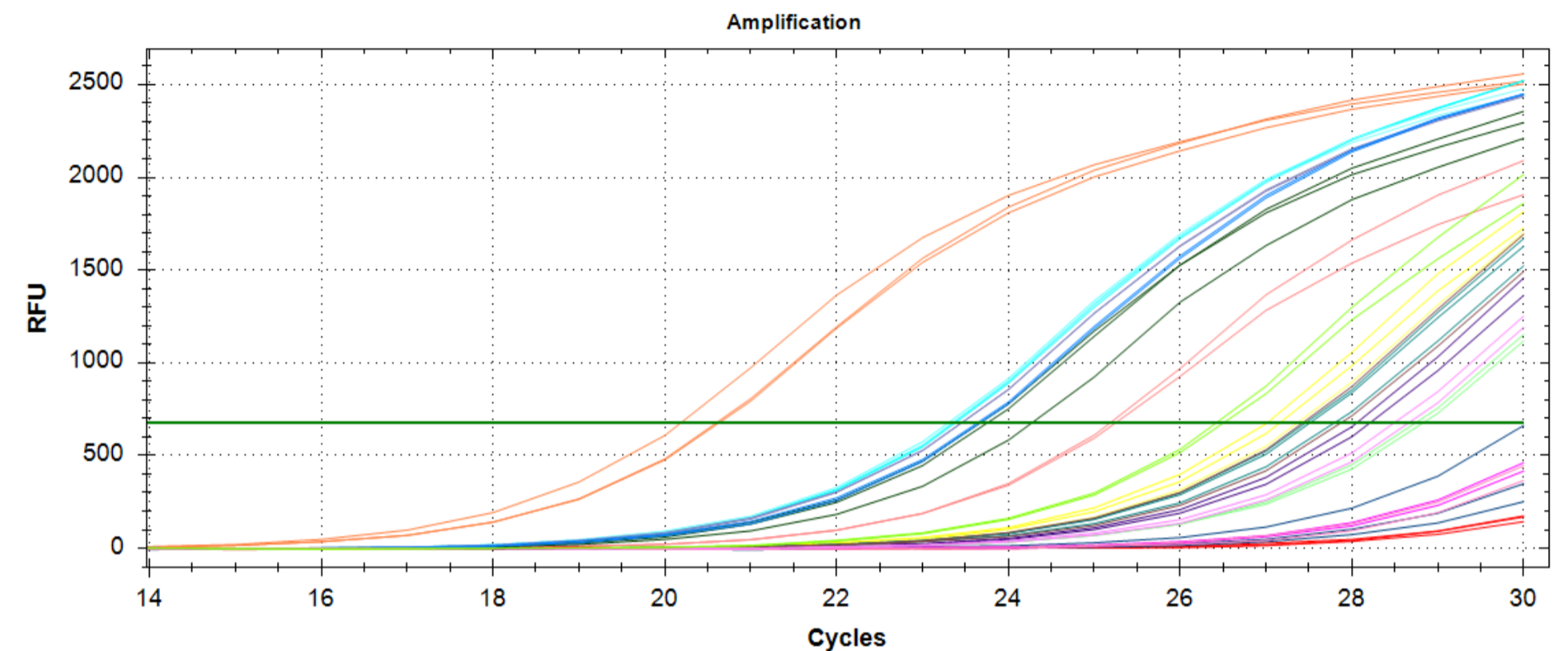


Figure1 amplification curve

Table1 Reaction liquid composition

反応液組成 (20 μ l)	
SYBR Fast qPCR MIX	10 μ l
Forward Primer	0.1 μ l
Reverse Primer	0.1 μ l
滅菌水	8.8 μ l
Sample	1 μ l

Table2 PCR protocol

3 Step PCR (Cycle:30)	1	94 $^{\circ}$ C	3min
	2	94 $^{\circ}$ C	5sec
	3	55 $^{\circ}$ C	1sec
	4	68 $^{\circ}$ C	4sec
	5	GOTO 2, 29times	



Figure2 Color scheme composition of samples

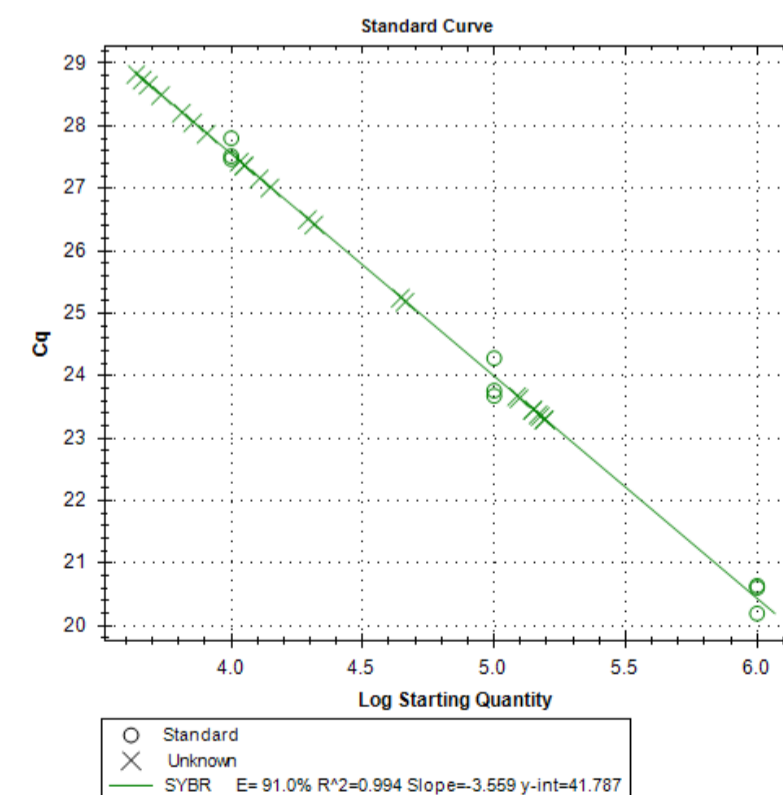


Figure3 Analytical curve

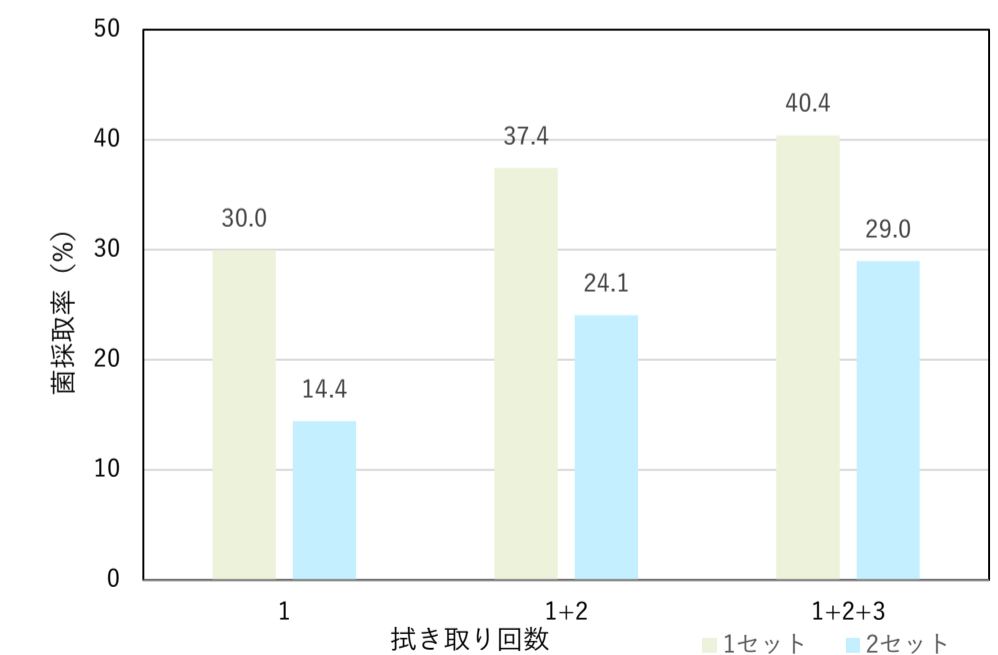


Figure4 Sampling rate

諸環境中のマイクロバイオームの比較

調査対象

- ・ オフィスビル10の執務室の室内と屋外
- ・ 大学の2教室の室内と屋外
- ・ 病院総合受付と外来待合室の室内、屋外、椅子・机表面

サンプリング方法

- ・ 測定方法： Air-Check:XR5000 (3L/min) + PTFE0.3Filter
- ・ 測定時間： 1時間



結果

病院、学校、オフィスの室内から検出された細菌の門・網・目・科・属数を表1に示す通りである。また、下記のような病原菌と日和感染菌が検出された。

病原性細菌種を有する属

- Corynebacterium*属 (病院・学校・オフィス)
- Mycobacterium*属 (病院・学校・オフィス)
- Streptococcus*属 (病院・学校・オフィス)
- Stenotrophomonas*属 (病院・学校)
- Yersinia*属 (病院・オフィス)

日和見感染菌を有する属

- Actinomyces*属 (病院・学校・オフィス)
- Pseudomonas*属 (病院・学校)
- Bacteroides*属 (学校)

Table1 Details of detected bacteria

	門 phylum	網 class	目 order	科 family	属 genus
病院	9	19	37	74	109
学校	9	21	38	74	115
オフィス	11	26	49	106	170

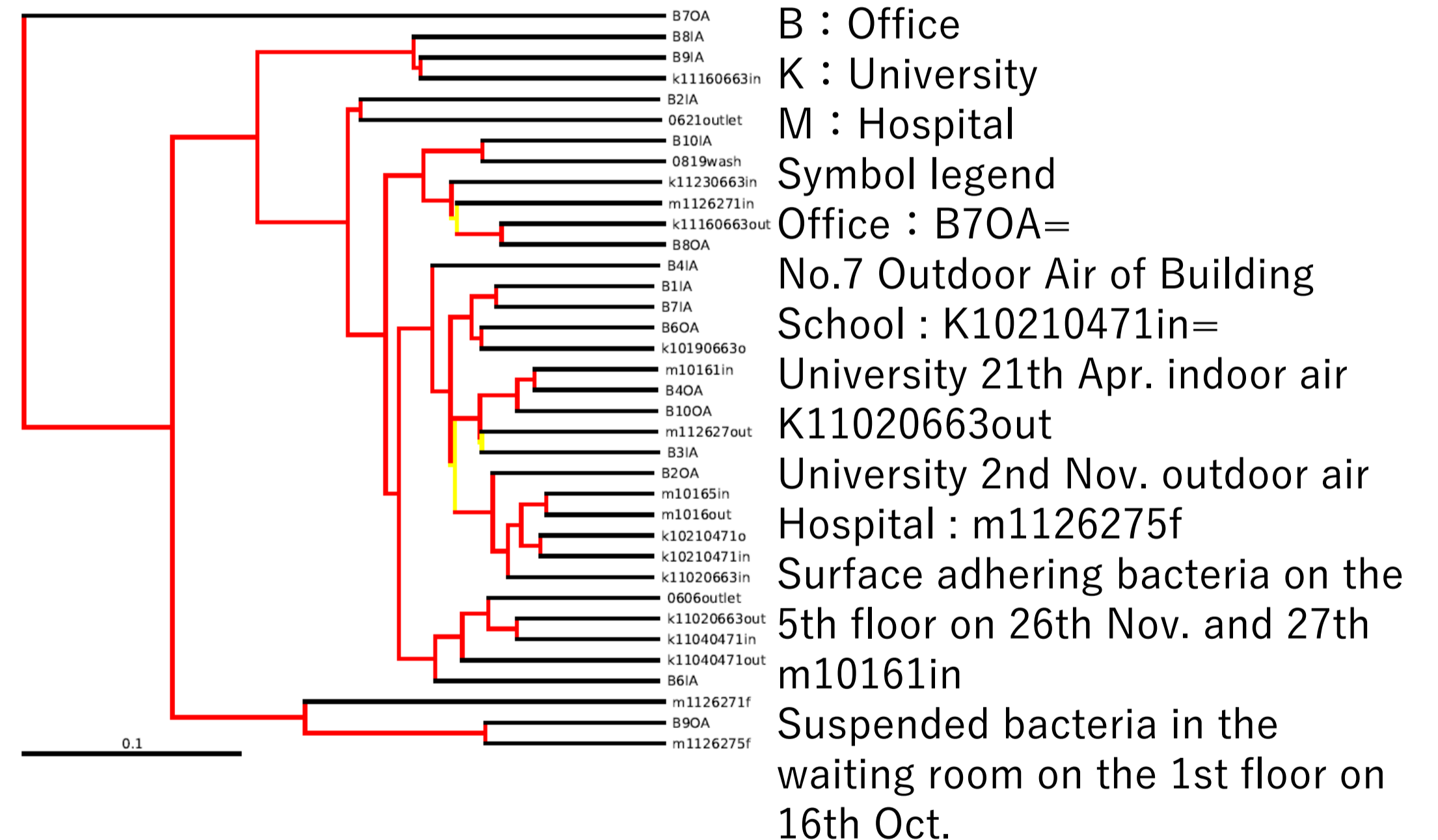
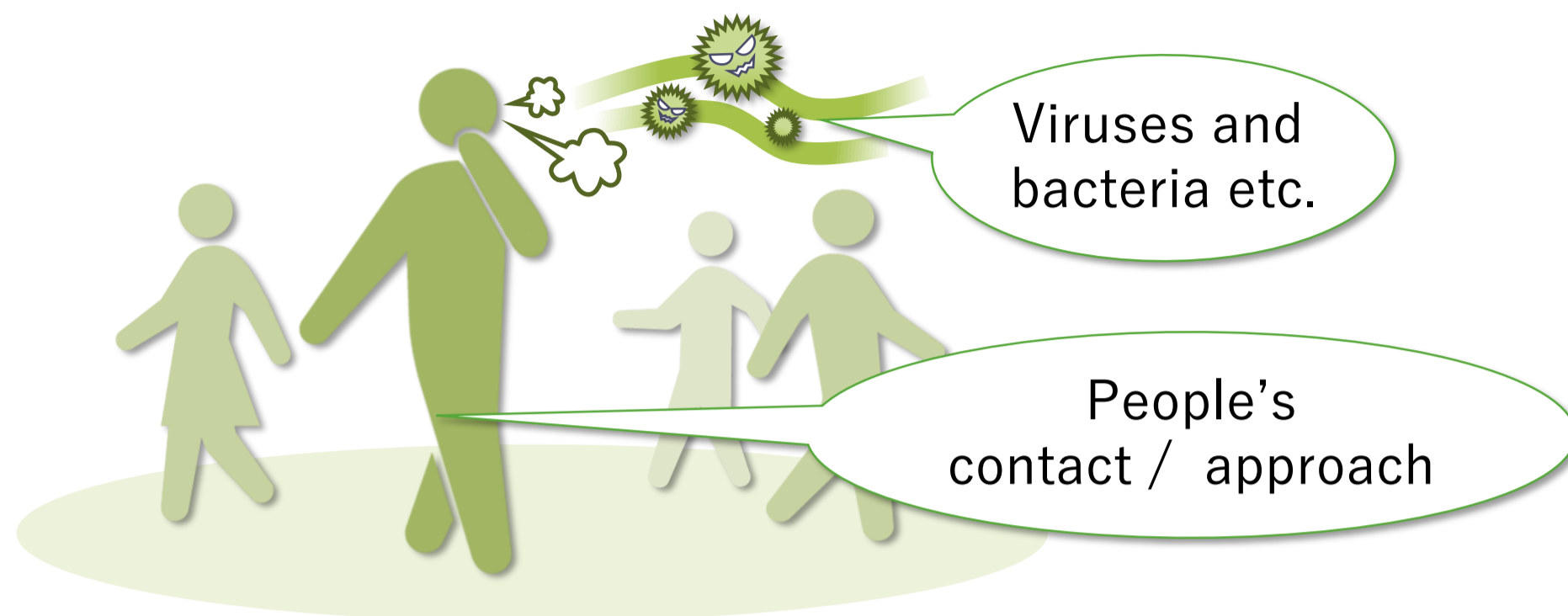


Figure1 Phylogenetic tree

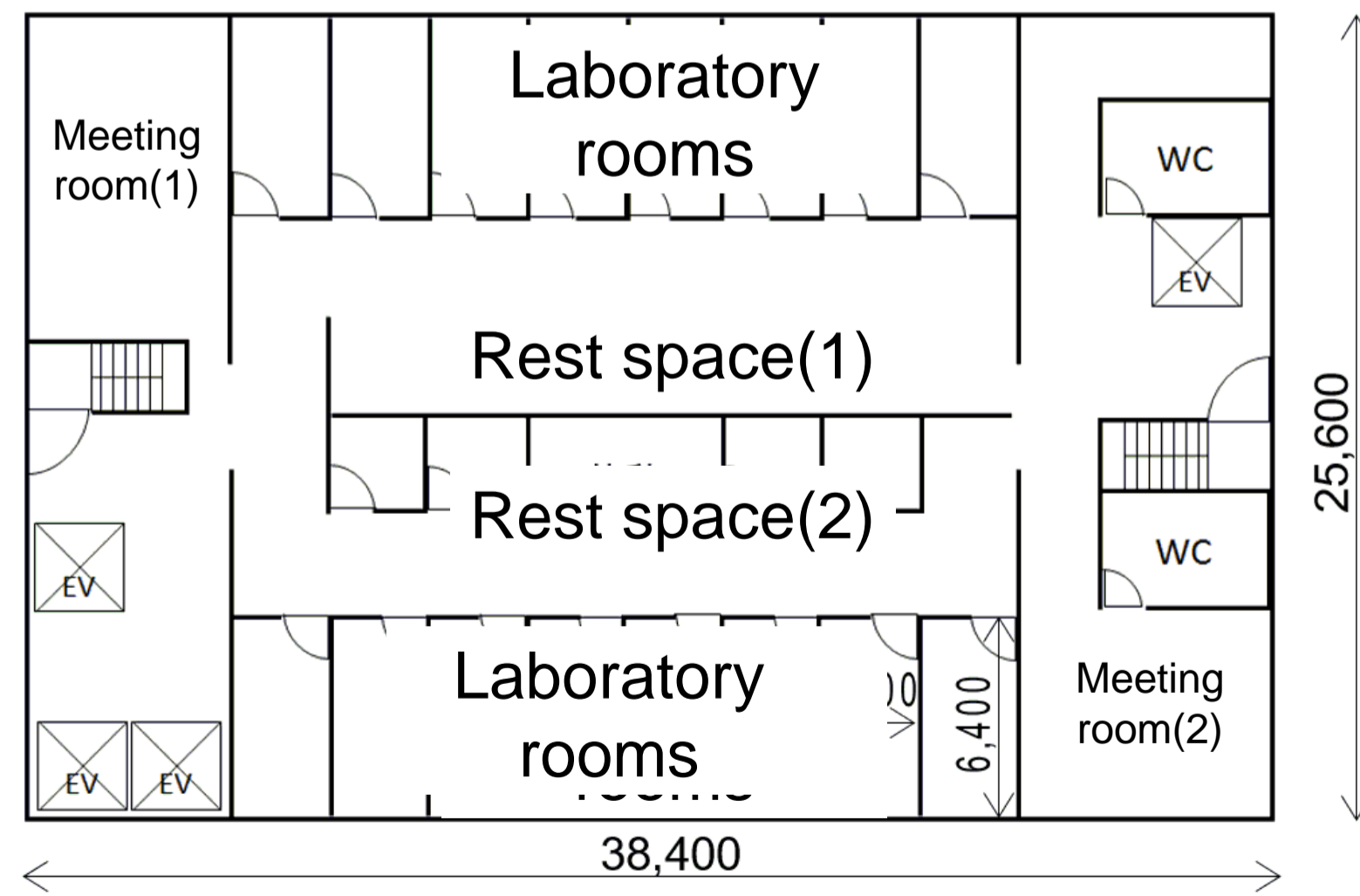
図1より、病院の5階の待合室 (m10165in) と外気 (m1016out) , 学校の教室 (K10210471in) と外気 (K10210471o) のマイクロバイオームがほぼ同じであり、室内に外気が影響を大きく及ぼすことが分かる。一方、病院の付着菌はほか浮遊菌の菌叢と異なることから、院内感染の感染経路を解明するのは、空気・飛沫感染と同様に接触感染も重要であることが示唆された。

行動シミュレーションによる感染リスク評価



- ・人の行動パターン
 - ・建築レイアウト
- 人と人の接触や感染リスクに影響を及ぼす可能性

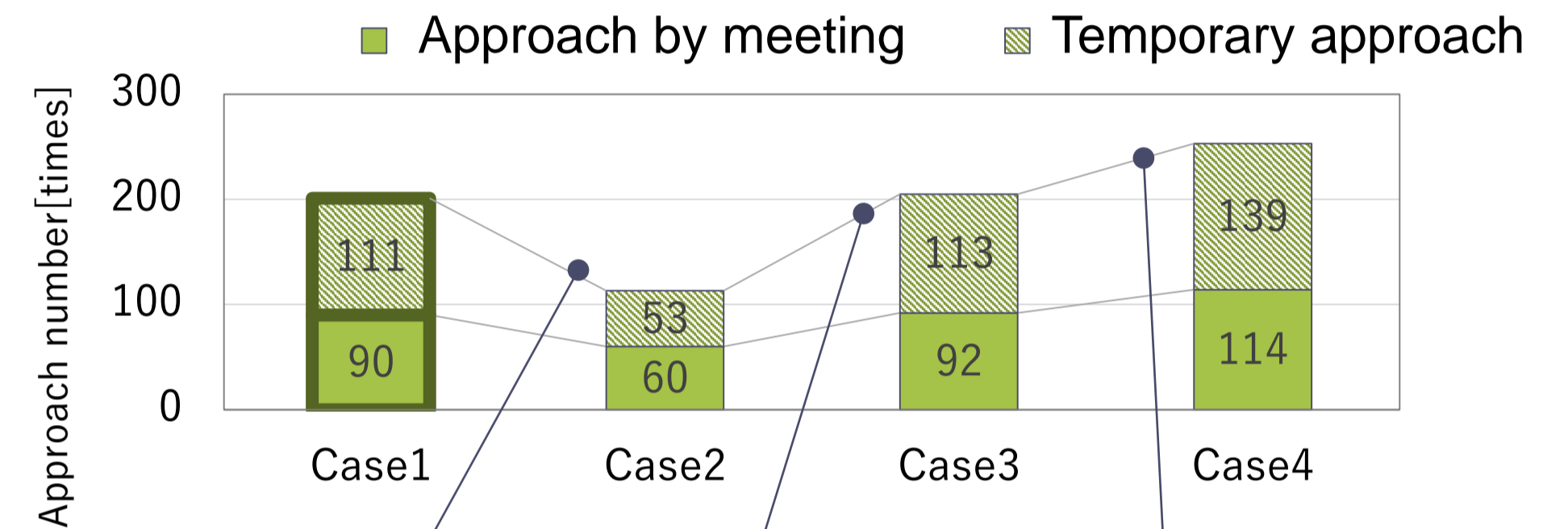
人の行動を計算する行動シミュレーションを用いて、
接近機会を定量的に分析する



Calculation target space

Table1 Study case

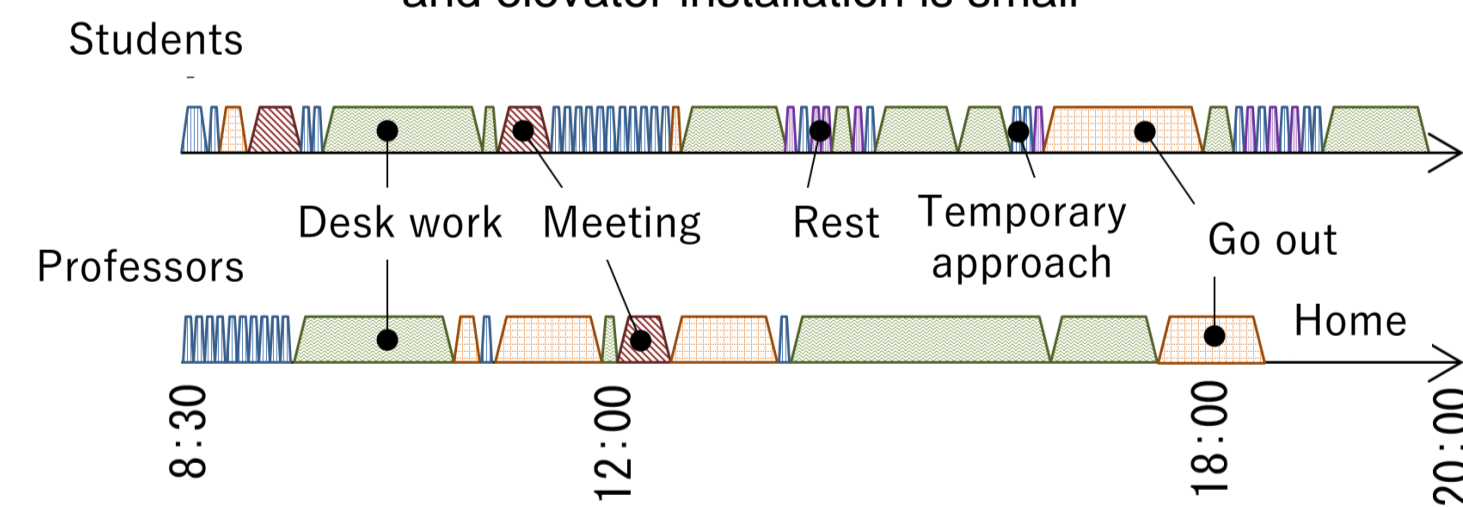
1	Standard condition
2	Reduce the number of agents Students 68→34
3	Reduce the number of toilets 2→1 , Elevators 4→2
4	Increase meeting activity ration Students 10 %→20 %



By decreasing the total number of agents, the number of accesses greatly decreases

Influence due to the number of toilets and elevator installation is small

As the number of meetings increases, temporary access also increases before and after that meeting



- ・大学を想定した空間では、ミーティング中における他者との接近機会が多い結果となった
- ・オフィスビルなどでは異なる可能性がある
- ・個人の行動パターンや建築レイアウトよりも、建物用途のほうが接近機会へ及ぼす影響は高いのではないかと