qPCR法を用いた接触感染リスクの定量的評価手法の確立

背景と目的

背景

■都市への人口密集化や建物の気密化
　∴感染リスクの増大→感染制御の必要性
■接触感染の機構は複雑で評価法が未確立(※1)
■遺伝子解析技術の発展，PCR(※2)法の開発

目的

■接触感染リスクの定量的評価手法の確立
　・解析手法の確立
　・実験手法の確立 ≺
■行動シミュレーションと，他の感染経路の
　シミュレータ(CFD)との組み合わせるによる
　高精度な感染シミュレータの作成

※1 接触感染について

・幾つかある感染経路の中でも三大感染経路に分類される．
　(空気感染，飛沫感染，接触感染)
・ノロウイルスに代表されるように高頻度に発生
・空気感染や飛沫感染と異なりCFDでの予測が不可能

感染経路	特徴	主な原因微生物
接触感染（経口感染含む）	● 手指・食品・器具を介して伝播する頻度の高い伝播経路である。	ノロウイルス 腸管出血性大腸菌 メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）、緑膿菌など
飛沫感染	● 咳、くしゃみ、会話などで、飛沫粒子（5μm 以上）により伝播する。 ● 1m 以内に床に落下し、空中を浮遊し続けることはない。	インフルエンザウイルス ムンプスウイルス 風しんウイルス レジオネラ属菌　など
空気感染	● 咳、くしゃみなどで、飛沫核（5μm 以下）として伝播する。 ● 空中に浮遊し、空気の流れにより飛散する。	結核菌 麻しんウイルス 水痘ウイルスなど

参考：http://kansenyobou.net/

※2 PCR法について

・1983年にキャリーマリスが開発した手法．
Polymerase Chain Reactionの略．従来よりも格段に速く，
正確な測量を簡単に行うことが可能となった．
中でも，本研究で用いているのは，リアルタイムPCR法である．
これは，蛍光物質を用いてPCR産物の生成過程をモニタリングし，目的とするDNAを測定(定量・検出)する方法．(下図参照)
以前までよく用いられた手法としてAdenosine TriPhosphate (:ATP)法があるが，この手法では，全ての生物内に含まれている細胞をターゲットとしてしまうため，計測が非常に難しい．

加藤研究室・大岡研究室・菊本研究室
Kato Lab., Ooka Lab., and Kikumoto Lab.

qPCR法を用いた接触感染リスクの定量的評価手法の確立

実験手法と結果

実験手法

実験フローと各ステップにおける条件

・実験場所：東京大学 加藤研究室 実験室

散布

・トレーサー

乳酸菌

(Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus OLL1073R-1)

① 希釈率 { 10倍 / 100倍 / 1000倍 }

② 散布量 { 50μl / 100μl }

③ ・対象素材

{ デコラ / フロートガラス / すりガラス }

乾燥

④ ・乾燥時間 { 1分００秒 / 2分３０秒 / 4分００秒 / 5分３０秒 / 7分３０秒 }

採取

・採取手法

縦横３往復ずつ，均一な荷重で拭き取る

-20°Cで冷凍保存し，qPCR法で解析を行う

①～④の条件を変化させたときの採取率を検討した

結果

①希釈率による採取率の変化

②散布量による採取率の変化

③素材の種類による採取率の変化

④乾燥時間による採取率の変化

■全てにおいて偏差が大きいものの，乾燥時間(④)以外では採取率との大きい相関は見られなかった

■全体的に採取率が非常に低くなってしまっているため，今後の課題とする