

大学食堂内におけるマイクロバイオームの実態に関する調査
- 秋季における測定結果

正会員 ○鈴木悠太^{*1} 同 山中俊夫^{*2} 同 小林知広^{*3}

4. 環境工学- 15. 空気質応用- e. ウィルス・微生物による空気汚染とその対策
マイクロバイオーム メタゲノム解析 食堂環境 集団感染

はじめに

学校や病院、公共施設などの不特定多数の人が集まる施設において、細菌やウイルスなどの病原体による集団空気感染や接触感染が問題視されている。直近でも、新型コロナウイルス (COVID-19) が中国を初めとし、日本、欧州など全世界へその猛威を振るっている。この他にもインフルエンザや、細菌性赤痢といった集団感染が社会的問題となっているのは周知の事実である。これら集団感染を防ぐ対策としてはマスクの着用、手洗い、うがいの徹底が有効とされているが、いずれも個人に委ねられている部分が多い。また、毎年報道される集団感染のニュースからも不十分であると言わざるを得ない。そこで、これら病原菌を媒介する空気や建具の物体表面などの環境中の微生物を詳細に把握することがより効果的な感染防止の対策になりえると考え、本研究では建築空間内において、病原菌を媒介する空気や建具などの物体表面に存在するマイクロバイオーム (細菌叢) を DNA 解析 (メタゲノム解析) することで、

対象空間中に存在する細菌の特徴及びそれらの伝搬経路について考察することを目的とする。本報では、11月 (秋季) の大学構内にある某食堂での測定結果について報告する。

1. 測定概要

本研究では大学構内の某食堂内を対象とした。図1に食堂の平面図 (サンプル箇所も併せて記載) を示す。厨房、食堂、便所、外気でそれぞれ採取を行い、合計28ヶ所 (浮遊菌4ヶ所+付着菌24ヶ所) のサンプルを得た。図2に測定スケジュールを示す。測定は2019年11月26、27日の2日に分けて行った。従業員並びに食堂利用者へ配慮しつつ、付着菌の採取は営業の妨げとならない時間帯 (15:00以降) に行った。また、厨房及び食堂内の浮遊微生物の採取は最も細菌が発生することが予想される時間帯 (12:00~13:00) に行い、外気及び便所では人による影響を除くため、時間帯に注意した。サンプル採取にあたり、従業員の方々に特別な指示は行わず、通常の清掃をしてもらっている。

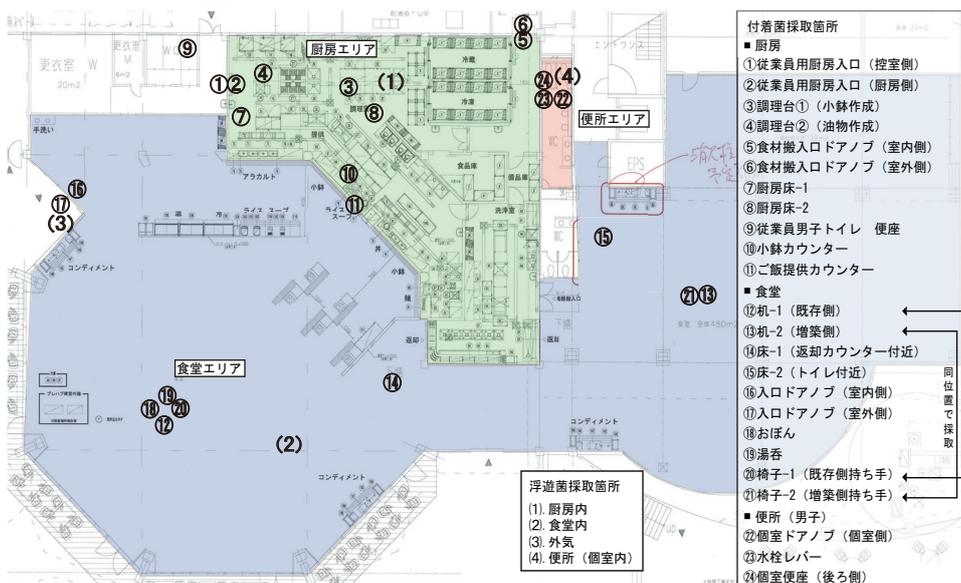


図1 食堂平面図及び採取箇所

	11/26	11/27	備考
厨房	12:00		浮遊菌採取
	13:00		
	15:00		付着菌採取
	16:00		
食堂		12:00	浮遊菌採取
		13:00	付着菌採取
		15:00	
便所		16:00	浮遊菌採取
		17:00	付着菌採取
		16:00	
		17:00	
外気		15:00	浮遊菌採取
		16:00	

図2 測定スケジュール



図3 スwab

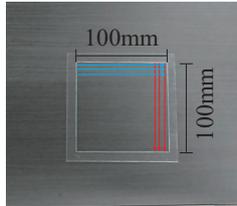


図4 型枠

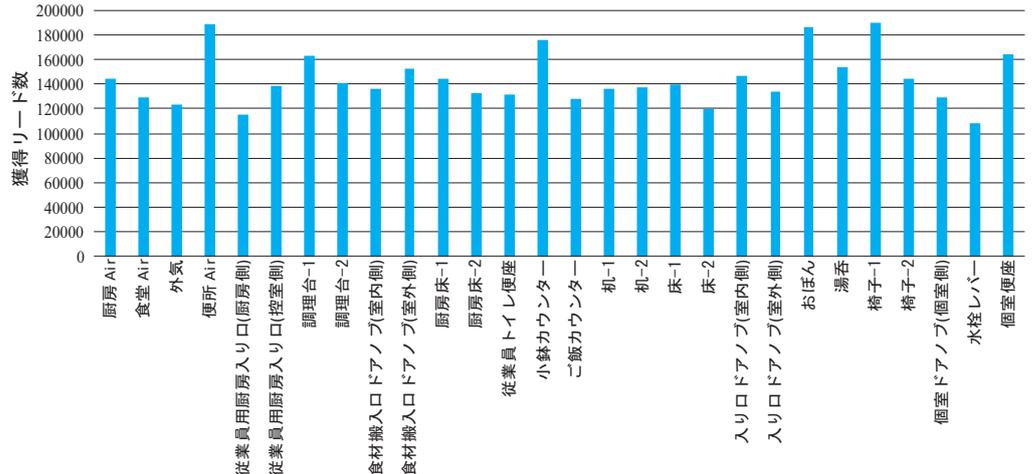


図5 サンプルごとの獲得リード数

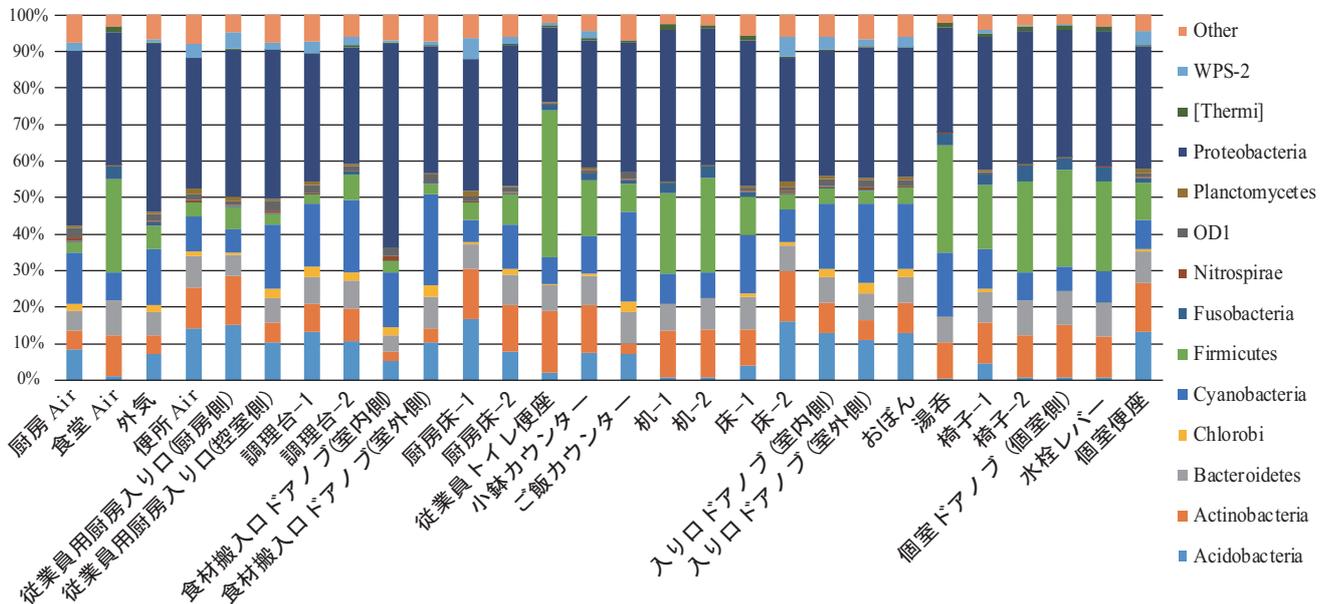


図6 サンプルごとに検出された細菌の組成比 (門)

浮遊微生物に関してはエアポンプを用いてサンプルし、サンプリング量は180 (3 L/min×60 min)とした。付着微生物の拭き取りサンプリングに関しては図3に示すスwabを用いて行い、その方法、注意点は既往論文^{1),2)}に従った。平面の拭き取りは100 mm × 100 mmの型枠(図4)内を縦横隙間なく各33回拭き取った。(スwab接触面の幅が3 mmのため)ドアノブ等の平面ではない箇所では縦横一定の力で慎重に拭き取った。

2. 測定結果

2.1 獲得リード数

図5に各測定箇所での獲得リード数を示す。リード数とはDNA断片の塩基配列の単位で、獲得データ量を表す。図の左4つ目までが浮遊微生物の獲得リード数である。結果を見ると、個室便所の浮遊菌

の獲得リード数が最も多く菌の温床となっている可能性が確認される。この他、おぼんや椅子などで相対的に高いリード数が見られる。これは生活習慣や使い方の異なる不特定多数の人が利用することで細菌の付着が促進されたと考えられる。一方、同じ箇所の机の結果が比較的小さいのは、利用者は主におぼんを利用するため、菌が直接机上面に触れる機会が少ないこと、測定した机の使用頻度による影響と考えられる。食堂従業員への事前の聞き取り調査で、厨房は毎日3回、食堂、トイレは開店と閉店時の2回、洗剤を用いて清掃しているとのことであったが、全測定点で多くの獲得データ量を示す結果となった。本測定では食堂利用者が多く利用した後(昼以降)、清掃を行う前(閉店前)に付着菌サンプルを採取したことが大きな要因として挙げられる。

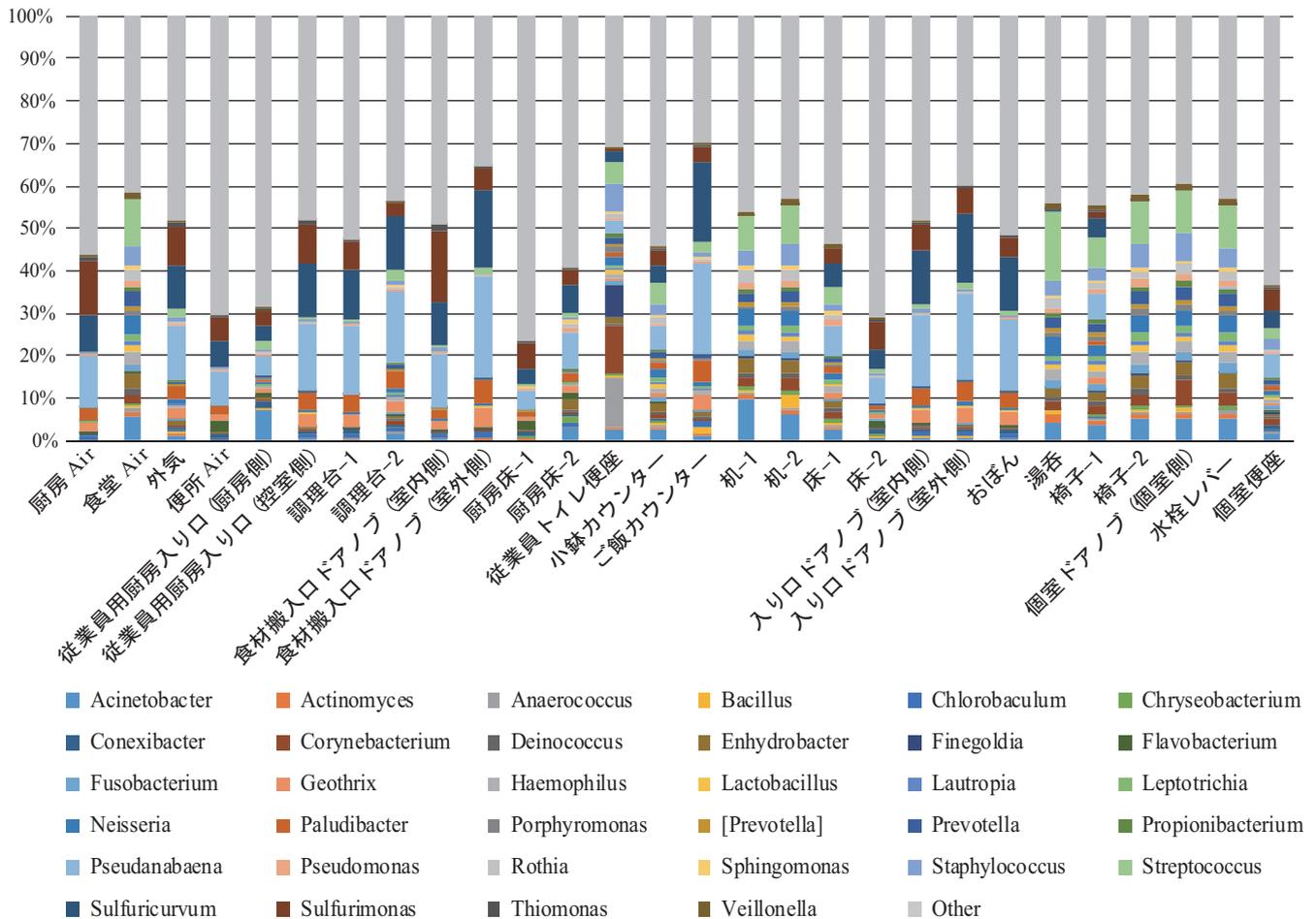


図7 サンプルごとに検出された細菌の組成比(属)

2.2 検出された細菌の組成比

各サンプルで採取された菌の組成比を「門」(図6)と「属」(図7)で示す。(細菌は「門」→「綱」→「目」→「科」→「属」→「種」と分類される) グラフでは、検出割合がサンプル内で1%以上となっている菌に着目して記載している。ほとんどのサンプルで門単位で最も検出割合が多かったのが、大腸菌、サルモネラなど多種多様な病原体が含まれている *Proteobacteria* 門であった。その他、地球上に数多く存在する *Cyanobacteria* 門、腸内細菌を含む *Firmicutes* 門、*Bacteroidetes* 門などが検出された。ここで注目したいのが腸内細菌を含む *Firmicutes* 門、*Bacteroidetes* 門が全測定箇所において検出されたことである。便所などで人の糞便などによって排出された細菌が人を介して食堂内、厨房内にまで伝搬している可能性が考えられる。属単位では自然界に多く存在する *Pseudanabaena* 属が最も多く検出された。しかし、ほとんどの「種」が感染症を起こす恐れのある日和見感染体であ

る *Acinetobacter* 属も机や椅子、便所で多くの割合で検出された。同様に人が発生源で日和見病原体の「種」をもつ *Streptococcus* 属も数多く検出された。本解析において数が少ないものの菌種にまで注目してみると、日和見病原体である *Acinetobacter lwoffii*, *Staphylococcus agalactiae*, 食中毒を引き起こす病原体である *Bacillus cereus*, 中耳炎や副鼻腔炎や肺炎などの気道感染症をもたらす可能性のある *Haemophilus influenzae* などの菌種が確認された。しかし、これら菌種の獲得リード数は非常に少なく、信頼性は属までの分類よりも劣るため、本解析の結果は参考程度に留めるべきと言える。詳細な菌種の調査には更なる調査が必要であると言える。しかしこれらの菌種が検出されるのは、不特定多数の利用者が存在するために、生活習慣や生活水準など利用者側の都合により、建物環境が大きな影響を受けてしまうことが原因として挙げられ、集団感染防止には施設管理者側のみならず、利用者の感染症予防意識の向上も併せて必要であると考えられる。

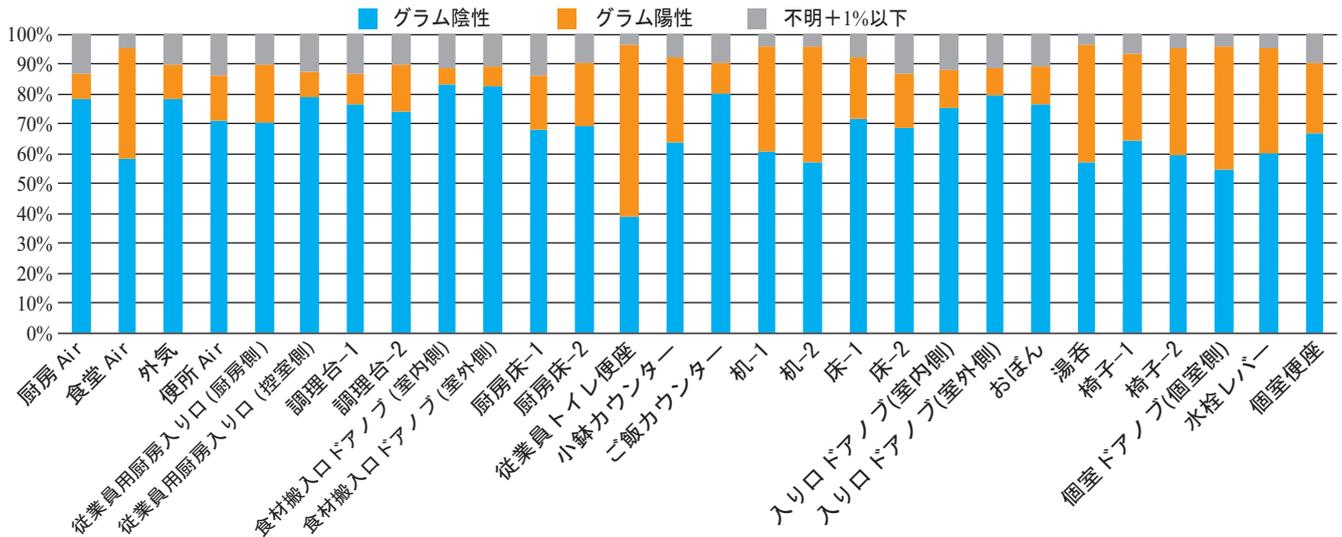


図8 検出された細菌のグラム染色性

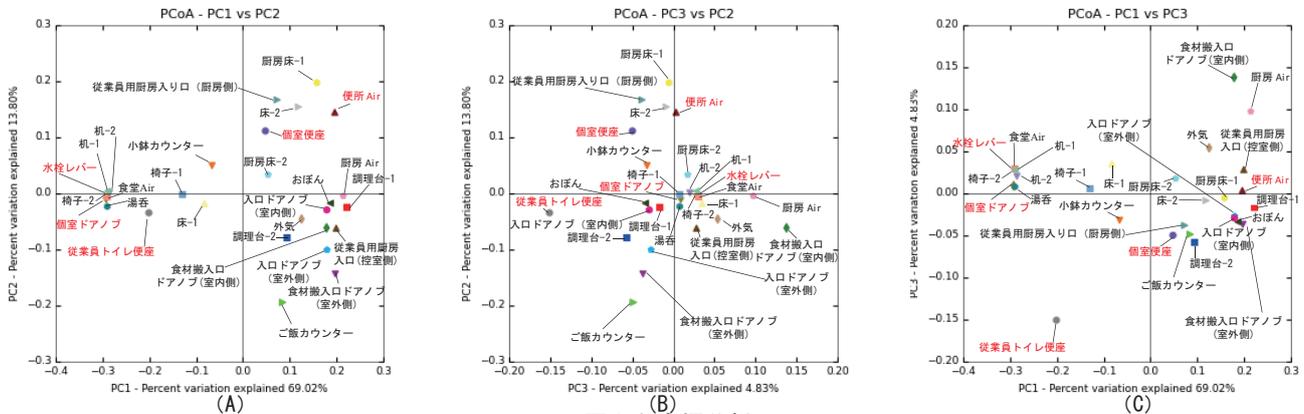


図9 主座標分析

2.3 検出された細菌のグラム染色性

図8に各サンプルで検出された細菌のグラム染色性を示す。グラム陰性菌は細胞壁にエンドトキシンを含み、微量でも体内に取り込んでしまうと発熱する恐れがあることで知られている。ほとんどの箇所ではグラム陰性菌の割合が検出された細菌の半数以上を示すことがわかる。日常的に不特定多数の人が利用する空間において人体に悪影響を及ぼす可能性のある菌が潜伏していることと云えよう。

2.4 主座標分析

図9に主座標分析の結果を示す。主座標分析では各測定箇所のデータが3次元空間にプロットされ各プロットが近い場合には菌叢が類似していると言える。便所で採取した浮遊微生物及び付着微生物は赤で示している。図9(A)、(B)、(C)から個室のドアノブと湯呑、机、椅子の菌叢の類似性が非常に高い

ことから、腸内細菌などが食堂内へ伝搬されている可能性が示唆される。

終わりに

本報では秋季における大学構内の食堂の浮遊微生物と付着微生物をサンプルして解析を行った。今後は得られたデータを更に分析し、考察を行う。

謝辞

DNA抽出・精製と解析会社への送付については工学院大学柳研究室の全面的なご協力を頂いた。またデータ整理に当たって、同大学柳教授及び小田切氏からご助言頂いた。ここに記して感謝申し上げます。なお、本研究は科学研究費助成事業挑戦的研究(開拓)JP17H06216(研究代表者:加藤信介)によるものである。関係者各位に謝意を表する。

参考文献

- 1) 加藤信介, 柳宇, 永野秀明, 伊藤一秀, 山中俊夫, 小林光, 羽山広文: 建築環境における呼吸器気病原体モニタリング法の確立に関する研究その1 マイクロバイオーム解析に基づく室内環境モニタリングの意義, 2017年度日本建築学会大会学術講演梗概集, pp.633-634
- 2) 柳宇, 加藤伸介, 永野秀明, 伊藤一秀, 山中俊夫, 小林光, 羽山広文: 建築環境における呼吸器気病原体モニタリング法の確立に関する研究その2 KG 大学研究室におけるマイクロバイオームの調査結果, 2017年度日本建築学会大会学術講演梗概集, pp.635-636

*1 大阪大学大学院工学研究科地球総合工学専攻 博士前期課程

*2 大阪大学大学院工学研究科地球総合工学専攻 教授・博士(工学)

*3 大阪大学大学院工学研究科地球総合工学専攻 准教授・博士(工学)

Graduate Student, Division of Global Architecture, School of Engineering, Osaka University

Prof., Division of Global Architecture, Graduate School of Engineering, Osaka University, Dr Eng.

Associate Prof., Division of Global Architecture, Graduate School of Engineering, Osaka University, Dr Eng