

厚生労働科学研究費補助金  
がん予防等健康科学総合研究事業

# 居住環境に基づく感染性疾患と その予防に関する研究

(H15-がん予防-083)

平成15年度 研究報告書

平成16年3月

主任研究者 河野 茂

(長崎大学大学院医歯薬学総合研究科)

目 次

I. 総括研究報告	-----	1
II. 主任・分担研究報告		
(1) 居住環境に基づく感染性疾患とその予防に関する研究： (主任研究者 河野 茂)	-----	7
(2) 居住空間における細菌性疾患とその予防に関する研究 (分担研究者 山口恵三)	-----	12
(3) 人畜共通感染症に関する研究－建築物衛生の観点から (分担研究者 池田耕一)	-----	18
(4) インフルエンザなどウイルス感染症についての実態調査・研究 (分担研究者 鈴木 宏)	-----	28
(5) 抗酸菌感染症についての実態調査 (分担研究者 高橋光良)	-----	34
(6) ダニアレルギー患者の居住環境等の背景因子に関する検討 (分担研究者 秋山一男)	-----	41
(7) 黒色真菌 <i>Stachybotrys chartarum</i> の病原性に関する研究 (分担研究者 亀井克彦)	-----	46
(8) 居住環境中の真菌による疾患についての実態調査・研究 (分担研究者 高鳥浩介)	-----	51
(9) 室内空気環境における微生物挙動のシミュレーション (分担研究者 藤井修二)	-----	54

## 居住環境に基づく感染性疾患とその予防に関する研究

主任研究者 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 新興感染症病態制御学系専攻  
感染分子病態学講座 病態生理制御学分野 河野 茂

### 研究要旨：

- 1) ヒト常在性の高い細菌は保菌者の行動に基づいて周辺環境を汚染すると考えられた。
- 2) 室内空気中の細菌の多くがVNC (viable but not cultivable) の状態にあることが明らかとなり、その意義や測定法について検討が必要と考えられた。
- 3) 居住環境中へのメチシリン耐性コアグラウゼ陰性ブドウ球菌(MRCNS)などの耐性菌の拡散が示唆された。
- 4) 居住環境の約30%の箇所から非結核性抗酸菌が検出され、ヒトに病原性を示すものが含まれていた。
- 5) 居住環境中の真菌は環境により種類が異なり、特に水系環境では独特の分布を示した。また簡便な方法で生細胞と死細胞との鑑別や形態の観察が可能となった。
- 6) 特発性乳児肺へモジデローシス (AIPH) の原因真菌と考えられている *Stachybotrys chartarum* が種々の強い生物活性を有していることが明らかとなった。
- 7) ダニアレルゲンの簡易なサンプリング法が開発され、皮膚表面を含む種々の環境表面からのサンプリングが可能となり室内空気中のアレルゲン濃度とも相関した。
- 8) パスツレラ属菌を保有することが確認されたペットを飼育している住宅の環境からは同菌は検出されなかったが、イヌを飼育している家庭では有意にイヌアレルゲンその他のアレルゲン量が多かった。
- 9) インフルエンザの流行は交通網に沿って拡散する伝播様式が明らかとなり、人口密度と交通網発達の関与の重要性が示唆された。
- 10) Computational Fluid Dynamics (CFD) やサブドメイン法により室内空気環境中の微生物挙動のシミュレーションが可能となり、疾患の予防のための居住環境のあり方を考える上で有用と思われた。

### 分担研究者

山口恵三（東邦大学医学部・微生物学教室教授）、池田耕一（国立保健医療科学院・建築衛生部部長）、鈴木 宏（新潟大学大学院医歯薬学総合研究科・国際感染症学教授）、高橋光良（結核予防会結核研究所・基礎研究部科長）、秋山一男（国立相模原病院・臨床研究センター部長）、亀井克彦（千葉大学真菌医学研究センター・系統・科学分野教授）、高鳥浩介（国立医薬品食品衛生研究所・衛生微生物部長）、藤井修二（東京工業大学大学院・情報理工学研究科教授）

### A. 研究目的

空調システムや循環式浴槽を介したレジオネラ属菌の集団感染、空調の不備に基づく結核の集団感染、冬季に乾性条件で好発するインフルエンザの集団感染、加湿器で繁殖した細菌による肺炎や、居住環境に存在する真菌による過敏性肺臓炎の発症、湿性環境下で繁殖するダニによるアレルギーの誘発など、建築物や住居の構造、設備の維持管理、使用条件などは、病原微生物等の繁殖やそれに基づく感染性疾患・アレルギー性疾患をはじめとする種々の疾患に大きく関与している。加えて、公共交通機関などの移動手段としての閉鎖空間も居住環

境とともに感染性疾患の伝播に重要と考えられる。さらに本研究班発足後に SARS が世界的な問題となり、その感染経路の一部に居住環境が関与している可能性も指摘されている。病院環境では、院内感染対策の立場から広範にこのような調査報告が行われているものの、一般の居住環境に焦点をあてた研究はほとんど行なわれておらず、予防医学的な観点からはこのような研究は不可欠であると考えられる。

そこで、居住環境中に存在する病原微生物等の実態の把握、それによる疾病の予防を目的とした居住環境の維持管理の在り方や、交通機関での疾患の伝播予防法について研究を行なう。

## B. 研究方法

初年度は現状の把握と問題点を明らかにするためにこの分野における国内外の文献のレビューを中心に行った。本年度はそれをもとに具体的な調査・研究を行った。

主任研究者の河野 茂は、特定の病原微生物（メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 [MRSA]、非結核性抗酸菌）による患者周辺環境の汚染状況の調査を行い、その拡散能力について検討を行った。また、医学部学生を対象にした咽頭および鼻腔における病原細菌およびメチシリン耐性コアグラゼ陰性ブドウ球菌 (MRCNS) などの耐性菌の保菌調査についての結果の解析を行った。さらに老朽化した建築物の解体作業における、粉塵の増加と飛散する微生物を定量的に測定し、工事とアスペルギルス属の胞子飛散の関係について検討した。

分担研究者の山口恵三は、保育園を対象とし、エアースンプラーを用いて保育室内の空気中の一般細菌を採取し、総菌量や生菌、死菌の割合、生きてはいるが培養不能な VNC (viable but not cultivable) 状態の有無について調査を行った。

分担研究者の池田耕一は、ペットを介した居住環境内での人畜共通感染症に着目し、パスツレラ属菌とイヌアレルギーを中心とした室内空気環境の調査を行った。

分担研究者の鈴木 宏は、本年度より本研究班に参加し、インフルエンザ流行と居住環境との関連について地理情報システム (geographic information system: GIS) を用いた検討を行った。

分担研究者の高橋光良は、昨年度の阿部

千代治分担研究者の後任として、居住環境中に存在する抗酸菌の分布状況についての調査を行った。

分担研究者の秋山一男は、アトピー型気管支喘息の主要な原因であるダニアレルゲンに関連して、ダニによる室内環境汚染調査用に簡易モニタリング法の開発の検討を行った。

分担研究者の亀井克彦は、特発性乳児肺ヘモジデローシス (AIPH) の原因真菌と考えられている *Stachybotrys chartarum* の病原性について *in vitro* およびマウスを用いた検討を行った。

分担研究者の高鳥浩介は、居住環境中の真菌量や分布の調査を行うとともに、迅速かつ簡易な手法の有用性についての評価を行った。

分担研究者の藤井修二は本年度より本研究班に参加し、室内空気環境における微生物の挙動について Computational Fluid Dynamics (CFD) によるシミュレーション解析を行い、さらに新たなシミュレーション手法について検討した。

本年度は平成 15 年 9 月 24 日に第 1 回研究班会議を開催し、具体的な調査対象の決定と中間報告を行い、平成 16 年 2 月 26 日の第 2 回研究班会議で調査結果の報告と今後の方針についての討議を行った。

(倫理面への配慮)

住宅、公共施設などにおける環境調査および被験者・ペットからの検体採取に際しては、予め当研究の目的と期待される成果などについて十分に説明し、主旨を理解していただき協力をお願いした。発表に際しては当該研究者以外には被験者、住宅、公共施設が特定できないように配慮した。

## C. 研究結果

本年度得られた研究成績を主任・分担研究者毎に示す。

### (1) 主任研究者・河野 茂

特定の薬剤耐性菌、病原菌をマーカーとして、周辺環境の汚染状況や医学部学生の保菌状態の経年変化について検討した。MRSA をマーカーとした場合、汚染状況は保菌者の活動状況により変化し、その他の微生物においても保菌者・キャリアの活動状

況により居住環境の汚染の程度は大きく異なることが予想される。またドアノブや水道栓などが食中毒微生物などで汚染されれば家庭における二次感染の原因となる。空気中の細菌も部屋の構造や入室者その他の活動により強い影響を受け、空調や窓などの構造は一般居住環境においても同様に大きな影響を持つことが考えられる。さらにシーツ交換などの一般家庭で行われる行為により、病原微生物が空中に浮遊し、通常とは異なる経路で感染を起こす可能性が示唆された。非結核性抗酸菌は今回の調査結果からは、飛沫核として空中に放出されにくい可能性が示唆され、本菌の感染経路に大きく影響している可能性がある。

医学部学生の調査では、この数年で急激にMRCNSを鼻腔に保菌する学生が増加しており、一般環境へのMRCNSの拡散が疑われた。

建築物解体中の調査では、工事期間中は隣接する病院環境で屋外、室内共に粉塵量が増加する傾向が認められたが、必ずしも近辺の工事が環境中の糸状菌の数を増加させる傾向は認められなかった。

## (2) 分担研究者・山口恵三

2つの大学病院附属保育園、および3つの一般保育園の計5施設で調査を行った。保育園の空気内の総菌数は概ね1,000リットルあたり100万前後であった。しかし、総菌数および生菌数の数に比べ、培養された菌数は100分の1から1000分の1と少なく、この差の中にある菌は、VNC(viable but not cultivable)の状態にあることが疑われた。ある保育園では3つの保育室のうち2室からメチシリン耐性コアグラゼ陰性ブドウ球菌(MRCNS)が優勢に分離された。*mecA*(メチシリン耐性遺伝子)の存在、*nucA*(黄色ブドウ球菌に特有な遺伝子)の非存在が確認された。他の複数の保育園においてもMRCNSが少数分離されたが、父母に医療従事者が見られない保育園ではMRCNSは分離されなかった。また、病院内日和見感染症の原因となる*Stenotrophomonas maltophilia*が分離された施設もあった。

## (3) 分担研究者・池田耕一

調査対象住宅の何れにおいても空気中と堆積じんからはパストレラ属菌は検出され

なかったが、全てのイヌから*Pasteurella canis*または*P. dagmatis*が検出され、イヌの口腔内にパストレラ菌が高い率に常在していることが確認された。ペットを飼っていない住宅内ではダニアレルゲンDer1とイヌアレルゲンCan f1が殆ど検出されなかったのに対して、イヌを飼っている住宅ではいずれのアレルゲンも検出され、特にCan f1はDer1の10-100倍多く検出された。イヌを飼っている住宅では、1 $\mu$ m以上の浮遊粒子濃度が高い傾向にある。また、浮遊真菌数と5 $\mu$ m以上の浮遊粒子濃度の間に有意な相関関係が認められ、1000個の浮遊粒子中に4~5個の真菌が含まれると推定された。今回の調査の結果からは、窓を2分弱開ければ、室内の空気を外気と1回入れ替えられ、換気による室内汚染物質の対策が有効であることが確認された。

## (4) 分担研究者・鈴木 宏

インフルエンザ感染と居住関係としては、*in vitro*での検討から湿度との関連性が示唆されてきたが、季節性や流行との関連を含めると、多くの点が不明である。感染者数、場所、動向、様式などを視覚的に地図上に捉える地理情報システム(GIS, geographical information system)を基本的な解析手法として検討を行った。新潟県内と隣県との関連、県内での伝播についての検討では流行は近県から入り、人口密集地の都市部から爆発的に、平野部分と狭い山間部のいずれも交通網に沿って拡散する伝播様式が明示された。気象との関連を検討し、流行の大小は特にエルニーニョやラニーニャとの関連性はなかったが、1月の平均気温の高さが流行程度と関連性が示唆された。全国の全県での気温、絶対湿度、相対湿度を検討し、相対室温ではなく10 $^{\circ}$ C以下の気温と10g以下の絶対湿度が流行開始の必要条件と思われた。

## (5) 分担研究者・高橋光良

結核菌による死亡率が高いために非結核性抗酸菌症をクローズアップした研究は僅かである。居住環境中の非結核性抗酸菌種の分離培養を行い、16s rRNA および*RpoB*遺伝子の塩基配列から菌種の同定を行った。計80のサンプル中30%に抗酸菌が検出された浴室、台所、洗面台周りなどから検出率

が高かった。ヒトに病原性の高い一般的な環境由来抗酸菌としては 24 時間風呂の *M. avium* が知られているが、今回の調査では検出されなかった。一方、ヒトに病原性のある *M. abscessus*, *M. fortuitum*, *M. mucogenicum* が検出された。また、空中浮遊抗酸菌の同定は培地汚染が著しいため、培地の選択性を向上する必要があることが判明した。

#### (6) 分担研究者・秋山一男

ダニによる室内環境の汚染の実態を明らかにするための室内環境調査に有用な簡易モニタリング手法を開発した。医療用粘着テープで寝具表面、皮膚表面から試料を採取する方法（テープ法）は、サンプリングが簡便であり、寝具表面、ヒトの皮膚表面のダニアレルゲン量を直接評価することが可能になった。テープ法で採取されるアレルゲン量は超微量であるため、高感度の測定法が必須になる。Der p 1/Der f 1 は検出感度が 1 pg/ml の高感度蛍光 ELISA を確立しているため、ほとんどの検体から検出下限値以上のダニアレルゲンを検出することができた。さらに、その測定値は室内空气中アレルゲン濃度と有意に相関した。また、わが国のごく一般的な家庭の室内の温湿度を通年的に測定したところ、月平均の相対湿度が 50% を下回ることはほとんどなく、開放型暖房器具を使っていれば、通年的に 60% 以上で推移していた。

#### (7) 分担研究者・亀井克彦

中国および日本の土壌、腐木、住居などから分離された 15 株の *Stachybotrys chartarum* を用いて検討を行った。いずれの菌株においても最高発育温度は 37°C であることが確認された。本菌培養上清、および本菌胞子洗浄液中にさまざまな生物学的活性が見られ、マクロファージや好中球に対して細胞障害性を有することが明らかとなった。細胞障害性の程度は菌株により差が見られた。また好中球 1 個あたりが貪食する胞子数 (phagocytic index) では、*S. chartarum* が *Aspergillus fumigatus* よりも低値を示し、さらに本菌胞子はその殺菌能に対し抵抗性を有することが判明した。マウスに経気道的に本菌胞子を投与す

ると、肺内に 1 週間以上生存し、肺胞出血は軽度にとどまるものの、肺内には著しい炎症および肉芽腫形成が見られることが明らかとなった

#### (8) 分担研究者・高鳥浩介

居住環境中の真菌量や分布の測定法は従来から培養によって実施されてきた。今回新たに、真菌の迅速かつ簡易な手法の評価を二重蛍光染色法及び市販ファンギフローラ Y による蛍光測定の一つの方法で検証した結果、良好な結果が得られた。

また、日和見感染性真菌の居住環境での分布を詳しく調査したところ、居住環境の中でも湿性な環境である水系環境は特異な真菌生態を有していることがわかった。水系環境器材では、浴室、洗面所、トイレ、台所ともに主要真菌のほとんどは、*Cladosporium*, *Rhodotorula* 及びその他の酵母が多くを占めていた。特に *Cladosporium* はほとんどの箇所で 40% 前後と高く汚染しているものといえた。また好湿性真菌、耐乾性真菌、好乾性真菌としてまとめたところ、環境とその環境に占める真菌とは相関した。

#### (9) 分担研究者・藤井修二

結核菌が 1~4  $\mu\text{m}$ 、SARS-CoV が 0.08~0.16  $\mu\text{m}$ 、Influenza virus が 0.08~0.12  $\mu\text{m}$  であることより、粒子の条件は粒径 0.1  $\mu\text{m}$ 、1  $\mu\text{m}$ 、10  $\mu\text{m}$  とし Computational Fluid Dynamics (CFD) によるシミュレーション解析を行った。強制換気を有する居室内でも気流は均一ではなく、よどみ領域では空気齢が高くなり、十分な換気性能が確保できないため、発生した微粒子が室外に除去されにくい。粒径 1  $\mu\text{m}$  以下の粒子は気流により輸送されやすいが、室内の換気状況が十分でない場合には、かなりの数が室外に除去されず、残存する。解析したモデルでは発生開始 30 分経過後でも、粒子発生源の位置によっては、粒径によらず 90% の粒子が残存する場合も認められた。粒径 1  $\mu\text{m}$  以下の微粒子の場合には、粒子発生源近傍空気余命と粒子残存率とはよい相関を示し、換気性能の改善により残存率を低減できる可能性のあることがわかった。さらに、微生物挙動のような現象解析に適用可

能な数値シミュレーション手法として、サブドメイン法と呼ぶ方法を検討中である。

#### D. 考察

初年度の文献レビューの結果、居住環境における感染性疾患についての国内での研究はほとんど行われておらず、その正確な実態について文献からのみ評価することは困難であり、実地調査の必要性が考えられた。

特に一般細菌についてはどのような細菌が居住環境に起因して感染性疾患を起こす可能性があるのか情報が得られないため、特定の病原細菌や耐性菌をマーカーとして環境汚染の指標とした。MRSAのような常在性の高い細菌では、保菌者の行動様式・範囲などに基づいて周辺環境が汚染され、多くのヒト常在性細菌が同様に拡散することが考えられた。また通常は接触により伝播するとされている MRSA も空中に浮遊する場合があります、特に一般家庭でも日常的に行われるシーツ交換時に浮遊量が増加し、これを吸入することで気道に定着する可能性も示唆された。病院環境に暴露される前から医学部学生の鼻腔の MRCNS 定着率が増加していることは、このような耐性菌が一般の居住環境中に拡散している可能性を示している。保育園における調査でも MRCNS が検出されたことは、上記の結果に一致すると考えられる。また、空気中の多数の菌が VNC 状態にあることが明らかとなり、このような状態の細菌による感染性疾患やアレルギー性疾患が起こる可能性も否定できず、空気中の細菌検査に関しては方法論を含め再検討する必要性が考えられる。

非結核性抗酸菌についてはヒト-ヒト感染は起こらないとされている。居住環境の約 30%から非結核性抗酸菌が分離されており、その中にはヒトに病原性を示す菌種も含まれており、これらが感染性疾患やアレルギー性疾患の原因となっている可能性が示唆された。特に非結核性抗酸菌に対して感染リスクの高い免疫不全患者、小児、高齢者については、その居住環境、特に台所や風呂などの清掃除菌の必要性が考えられる。肺非結核性抗酸菌患者の咳に伴う周辺環境および室内空気の汚染に関する調査では、いずれからも非結核性抗酸菌は分離されず、結核菌と比較して飛沫核として飛散しにくい可能性が考えられ、そうであれば

非結核性抗酸菌でヒト-ヒト感染が起こらない要因とも考えられる。

ペットを介した人畜共通感染症の増加は現代社会における問題のひとつである。今回の調査ではパスツレラ属菌を保有することが確認されたペットを飼育している居住環境からは本菌は検出されていないが、今後調査対象を増やして検討する必要がある。またイヌを飼っている住宅内ではイヌアレルゲンその他のアレルゲン量が多いことが明らかとなり、ペットの飼育は感染症とアレルギー性疾患の両方の原因となりうるということが示唆された。

GIS を用いたインフルエンザの流行に関する研究結果からは人口密集地で流行したものが周辺地域へ拡散することが明らかとなった。このような流行の拡散には人口密度と交通網の発達が強くと関与していると考えられた。交通の発達した現在、昨年 SARS コロナウイルスが香港のひとつのホテルで暴露を受けた人々を媒介として各国に広まったように、現在社会における重要な感染症の伝播様式と考えられる。

ダニは国内のアトピー型気管支喘息の最大の原因アレルギーであり、患者の居住環境でのダニアレルゲンの調査がしばしば行われる。今回の研究ではこれまでの掃除機を用いた方法よりはるかに簡便で従来法との相関の高いテープ法が開発された。テープ法の開発により従来困難であったヒトの皮膚表面のダニアレルゲン量の評価が可能となった。さらにテープ法での測定値と室内空気中のダニアレルゲン濃度に有意な相関が見られたことから、煩雑なエアサンプリングを行わずに暴露レベルを推定できる可能性がある。

*Stachybotrys chartarum* による AIPH その他の健康被害の実態はわが国では全く明らかとなっていない。しかし、本菌の存在は国内での居住環境においても稀でない。今回の研究により本菌が様々な強力な生物活性を有しており、マウスの肺に強い炎症を惹起したことは、居住環境中での本菌の吸入が呼吸器疾患の原因となっている可能性が否定できず、さらなる病原性の評価や分布状況の調査が必要と考えられる。

真菌は居住環境に存在する微生物の中では比較的疾患との関連性が高い。従来から培養法で検査される場合が多いが、死菌であっても抗原性が保たれアレルギー性疾患の原因となりうる。今回の調査で、蛍光法

を用いると簡便に生きた真菌と死菌を鑑別できることが明らかとなり、また形態の観察が容易になることが判明した。これらの方法で検討された居住環境中の真菌の分布調査では、環境の種類（湿性か否か）と生息する真菌の種類に相関が見られ、特に水系環境は独特の真菌生態を有していることが明らかとなった。このような調査結果をもとにさらに感染性疾患・アレルギー性疾患との関連性、および予防法の解析が重要と思われる。

室内空気環境における微生物挙動のシミュレーションは、疾患の原因と疑われる微生物の大きさなどにより様々な解析が可能であり、本研究班で明らかとなった微生物などによる健康被害を予防するための重要なツールになると考えられる。さらに従来の CFD に加え、サブドメイン法という新しいシミュレーション手法が検討中であり、これを適応することで屋内環境条件と微生物汚染の関係などが検討できるものとして期待される。

## E. 結論

初年度の文献調査からダニや一部の真菌を除いて、この分野の研究は不十分であり、居住環境と病原性微生物やダニの関連についての疫学調査や、温度・湿度や空調と感染性疾患の発症の関連性の調査、防御法に関する臨床的研究が必須であることが示唆された。

今年度は一般細菌、抗酸菌、真菌、ウイルス、ダニについて疫学的あるいは実験的な調査も含めて、その居住環境中における実態などが具体的に明らかとなってきた。その中で新しい検出法の開発も行われた。さらに室内空気中における微生物挙動のシミュレーションが可能となった。

今後さらにこのようなデータを蓄積し、居住環境における感染性・アレルギー性疾患の原因微生物やダニなどの実態をさらに明らかにし、疾患予防についての研究に発展させる必要がある。

## F. 研究発表

1. 論文発表  
該当するものなし
2. 学会発表  
該当するものなし

## G 知的所有権の取得状況

該当するものなし



「居住環境に基づく感染性疾患とその予防に関する研究」

主任研究者 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 新興感染症病態制御学系専攻  
感染分子病態学講座 病態生理制御学分野 河野 茂  
研究協力者 平潟洋一（同医学部・歯学部附属病院 検査部）、  
大野秀明、宮崎義継（同第二内科）、田代隆良（同保健学科）

研究要旨：

- 1) 特定の薬剤耐性菌、病原菌をマーカーとして、患者周辺環境の汚染状況や医学部学生  
の保菌状態の経年変化について検討し、居住環境における保菌者からの微生物による環境  
汚染について考察した。
- 2) 建築物の解体作業に伴う空気中の細菌、真菌、粉塵量の変化について検討した。
- 3) MRSA をマーカーとした場合、汚染状況は保菌者の活動状況により変化し、その他の微  
生物においても保菌者・キャリアの活動状況により居住環境の汚染の程度は大きく異なる  
ことが予想された。
- 4) 空気中の細菌も部屋の構造や入室者その他の活動の強い影響を受け、空調や窓などの  
構造は一般居住環境においても同様に大きな影響を持つことが考えられた。
- 5) シーツ交換などの一般家庭で行われる行為により、病原微生物が空中に浮遊し、通常  
とは異なる経路で感染を起こす可能性が示唆された。
- 6) 非結核性抗酸菌は保菌者からの飛沫到達可能な距離においても環境汚染は見られず、  
室内空気からも検出されなかった。結核菌と異なり飛沫核として放出されにくい可能性が  
示唆された。
- 7) 医学部学生の調査ではこの数年で急激にメチシリン耐性コアグラウゼ陰性ブドウ球菌  
(MRCNS)を鼻腔に保菌する学生が増加しており、一般環境への MRCNS の拡散が疑われた。
- 8) 建築物解体により隣接する病院環境で屋外、室内共に粉塵量が増加する傾向が認めら  
れたが、必ずしも環境中の糸状菌の数は増加しなかった。

A. 研究目的

居住環境における微生物やダニなどの繁殖とそれに基づく疾患の発症、あるいは公共交通  
機関のような移動性閉鎖性空間における感染性疾患の伝播についての検討はほとんどなさ  
れていない。そこで、これらの点についての知見を収集し、居住環境中の病原微生物等  
による疾病の予防を目的とした居住環境の維持管理の在り方や、交通機関での疾患の伝播予  
防法について研究を行なう。昨年度は現状の把握と問題点を明らかにするためにこの分野  
における国内外の文献のレビューを行った。その結果、一般の居住環境と感染性疾患に関  
する論文は極めて少なかった。そこで本年度は基礎的なデータの集積を目的に以下のよう  
な種々の検討を行った。

- 1) 特定の病原微生物による患者周辺環境の汚染状況の調査を行い、その拡散能力に  
ついて検討を行った。ターゲットとして検出の容易な病原微生物であるメチシリン耐性黄  
色ブドウ球菌 (MRSA)、肺炎球菌、緑膿菌などの細菌、非結核性抗酸菌、アスペルギルスな  
どの真菌を設定した。本年度までに MRSA および非結核性抗酸菌に関して検討が可能であ  
った。
- 2) 当医学部学生を対象にした咽頭および鼻腔における病原細菌およびメチシリン耐  
性コアグラウゼ陰性ブドウ球菌 (MRCNS) などの耐性菌の保菌調査についての結果の解析を  
行った。

3) 居住環境中に存在する糸状菌は、喘息などのアレルギー疾患の原因であるばかりでなく、無顆粒球症の患者では致死率の高い侵襲性肺アスペルギルス症 (invasive pulmonary aspergillosis; 以下 IPA) の原因となる。当院の新病院建築に伴う老朽化した建築物の解体作業における、粉塵の増加と飛散する微生物を定量的に測定し、工事とアスペルギルス属の孢子飛散の関係について検討した。

## B. 研究方法

### 1) 病原微生物による患者周辺環境の汚染状況の調査

#### (1) MRSA

MRSA 保菌者が入室している病室と、非保菌者のみが入室している病室を対象とした。検体の採取はシードスワブ 1 号 (栄研) を滅菌生理食塩水で湿らせ、一定面積 (平面は 10 x 10 cm、ドアノブなどは全面) を拭い取った。室内の細菌については RCS エアサンプラーを用いて床から 120cm の高さで毎回 160L の空気を吸引しアガーストリップに吹き付けた。

羊血液寒天培地および MRSA 用選択培地である OPA 寒天培地を用い、35°C で 48 時間培養し発育した菌数を計数した。OPA 寒天培地に発育したレンチナーゼおよびマンニトール分解能陽性のコロニーのうち、グラム染色でブドウ球菌の形態を示し、コアグララーゼ、カタラーゼおよび DNase 陽性のものを MRSA とした。一部の分離菌については pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) 法で遺伝子タイピングを行った。

#### (2) 非結核性抗酸菌

*Mycobacterium avium* complex (MAC) の排菌者 2 名 (ガフキー号数で 5 号および 7 号) からインフォームドコンセントを得た。あらかじめ 2 人部屋病室相当の実験室の換気を 30 分以上行い、室内空気をエアサンプラーで採取し培地 (7H10+AMPB) に接種した。被験者は一定の場所に座り、30cm、1m、2m、5m の位置に培地を 2 枚ずつ静置した。静置培地の蓋を 10 分間解放し、被験者に通常通り咳をして頂いた。再び室内空気をエアサンプラーで採取した。直ちに培地を 37°C で培養し、28 日、35 日目に培養成績を判定した。

### 2) 医学部学生の保菌調査

平成 8 年度より臨床実習における検体採取のトレーニングの一環として、咽頭および鼻腔ぬぐい液をシードスワブ 1 号を用いて採取した。

羊血液寒天培地、OPA 寒天培地、その他の培地を用い、35°C で 48 時間培養した。MRCNS の判定は上述の MRSA の判定項目のうちコアグララーゼ反応が陰性のものとした。

### 3) 建築物の解体作業に伴う粉塵および微生物の拡散調査

平成 16 年 2 月 8 日から 3 月 20 日まで、当院の屋上および工事地域に接する 12 階病棟窓側の特定箇所 (室内 A)、および、窓に接していない廊下の特定箇所 (室内 B) においてサンプリングをおこなった。

粉塵量測定は、日本カノマックス (モデル 3421) を使用し、粒子径 10 μm 以下の粉塵を 3 分間計測した。

空中の浮遊微生物はエアサンプラー (SAS スーパー100、アイネクス株式会社) を用いた。1 回あたりにサンプリングした空気は 500L で、サンプリングした空気中の微生物は直接サブロー培地に接種された。微生物の菌量測定は 48 時間後におこない、一般細菌が疑われた場合にはグラム染色をおこない酵母との区別を行った。糸状菌の場合には、継代して分生子を形成させ、形態学的に分類をおこなった。

## C. 研究結果

### 1) 病原微生物による患者周辺環境の汚染状況の調査

#### (1) MRSA

環境表面からの総検出菌数については、MRSA 保菌者病室の方が非保菌者病室よりも多い傾向があり、ベッド横の床、床頭台、枕、ベッド柵などで顕著であった。歩行不可能な MRSA

保菌者の病室では特にベッド横の床から MRSA が多く検出された。歩行可能な MRSA 検出患者の病室では多くの調査箇所から MRSA が検出され、病室外側の廊下からも検出された。患者から検出された MRSA と環境から検出された MRSA の遺伝子タイピングでは、環境から分離される MRSA はその時期に入室している患者に由来することが示唆された。

病室空気内の細菌数については、まず部屋の種類別に日内変動の調査を行った。6 人部屋では室内および廊下のいずれにおいても比較的検出菌数の日内変動が小さかった。個室や二人部屋では人の出入りなどによる影響が大きかった。MRSA 非検出者のみの部屋の空気からも MRSA が検出されることがあった。次にシーツ交換時の病室内空気の検討を行ったが、シーツ交換開始から直後にかけて空中浮遊菌が著明に増加したが、20 分後にはシーツ交換前のレベルに戻った。MRSA 保菌者病室ではシーツ交換後 60 分後にも病室内空気から MRSA が検出された病室があった。また非検出患者病室においてもシーツ交換中および直後に MRSA が検出された部屋が認められた。

## (2) 非結核性抗酸菌

被験者の喀痰から MAC がそれぞれガフキー5号、および7号検出されていたにもかかわらず、すべての静置培地の培養では MAC は検出されなかった。また室内空気からも MAC は検出されなかった。

## 2) 医学部学生の保菌調査

平成8年度は病室実習の途中から調査を開始したため被験者数は45名と少なかったが、その後は毎年80~102名であった。毎年、咽頭における病原菌としては黄色ブドウ球菌(MSSA)が数名、肺炎球菌が1名前後、インフルエンザ菌が~3名検出され、経年的な変化は認めなかった。これらの病原細菌の中で耐性菌については、平成9年度に90名中1名の咽頭からペニシリン耐性肺炎球菌(PRSP)が分離された。PRSPは平成15年度にも89名中2名から検出された。インフルエンザ菌では平成12年度および13年度に、それぞれ102名中1名、101名中1名からβ-ラクタマーゼ陰性アンピシリン耐性(BLNAR)菌が検出された。

鼻腔の保菌調査では、平成8年度には45名中1名(2.2%)からのみMRCNSが検出された。平成9年度も90名中2名(2.2%)の鼻腔からMRCNSが検出され、検出率に変化は無かった。しかし、平成10年には86名中8名(9.3%)と増加し、さらに鼻腔のMRCNS保菌率は急増して平成12年以降は30-40%の学生の鼻腔からMRCNSが分離されている。また鼻腔におけるその他の耐性菌としては、平成14年度に初めてMRSAが74名中1名から分離され、平成15年度にも81名中1名から分離された。

## 3) 建築物の解体作業に伴う粉塵および微生物の拡散調査

### (1) 粉塵量

工事が実施されている期間と非工事期間の粉塵量(mg/m<sup>3</sup>)は、屋外においては平均0.013:0.009(工事期:非工事期)であった。また室内Aと室内Bにおいてはそれぞれ工事中:非工事期は0.012:0.08と0.021:0.001であった。屋外や室内Aは工事中にやや粉塵指数が高い傾向にあり、室内Bにおいては顕著であった。

### (2) 一般細菌

検出された一般細菌は、ほとんどがブドウ球菌であった。菌量に関しては、室内Aが5.6CFU/m<sup>3</sup>および室内Bで10.1CFU/m<sup>3</sup>に対し屋外では2.1CFU/m<sup>3</sup>と少なかった。工事と非工事期間に関しては、室内Aが3.4:1.6(工事期:非工事期)、室内Bが5.7:3.8、と工事中に浮遊菌数が多いことが示唆されたが、屋外では0.9:1.2と工事との関連は低い傾向にあった。

### (3) 糸状菌

屋外における浮遊糸状菌の平均は工事中3.4CFU/m<sup>3</sup>で非工事期間は2.8CFU/m<sup>3</sup>であった。一方、室内の平均は室内Aが6.6:4.2(工事期間:非工事期間)、室内Bが1.5:2.0であった。

#### D. 考察

初年度の文献レビューの結果、居住環境における一般細菌による感染性疾患についての国内での研究はほとんど行われておらず、その実態について評価することは現時点では困難と考えられた。そこで、特定の病原体や薬剤耐性などのマーカーを有する細菌に着目し、これらによる周辺環境の汚染の実態や、医療従事者よりも一般健常人に近いと考えられる医学部学生の保菌常態についての解析を行った。さらに建築物解体に伴う粉塵量、真菌の拡散状況について検討を行った。

MRSA は乾燥に比較的強い細菌であるが、保菌者の周辺環境からはその活動状況に応じた MRSA 汚染が観察された。すなわち寝たきり患者のような行動範囲が限られた保菌者の周辺環境は、比較的限定された範囲からのみ MRSA が検出されたのに対し、歩行可能で頻繁に病室内外を歩き回る保菌者の場合は、その周辺環境から広範囲に MRSA が検出された。さらに遺伝子タイピングの結果、環境から分離される MRSA は患者に由来するものと考えられた。これらのデータは MRSA に限らず、多くの細菌が保菌者の活動範囲に応じてその周辺環境に伝播されることを示唆している。水道栓やドアノブから MRSA が検出された箇所があり、このような多くのヒトが共通して触れる環境の汚染は間接的な接触感染の原因となりうる。

また病室内の空気中細菌の調査では、病室の構造、入室者の活動状況、ヒトの出入りにより菌数が大きく変化することが明らかとなった。6人部屋のような病室空間が大きく、出入り口が広いところでは入室者および医療従事者や見舞い客などが頻繁に出入りしても、影響が小さかったのに対し、個室などの狭い空間ではヒトの出入りの影響が多きく、万一病原微生物が存在する場合、空気中に多量に拡散する可能性が考えられる。

一般家庭でも日常的に行われるシーツ交換では一時的に室内空気中の細菌数が増加する。一般に接触感染で伝播するとされている MRSA が検出される場合もあり、このような室内空気中の MRSA を吸入することで気道が汚染される可能性も考えられた。このような MRSA という薬剤耐性菌をマーカーとした調査の結果からは、種々の病原微生物が通常の感染経路以外に室内空気を汚染することで伝播する可能性を示唆している。

MAC に関しては被験者が2人と少ないため安易に結論は出せないが、飛沫到達可能な静置培地および室内空気のいずれからも MAC は検出されなかった。結核菌が空気感染により容易にヒト-ヒト感染を起こすのに対し、MAC はこのような感染は起こさないとされている。今回の実験結果からは、MAC は結核菌と異なり飛沫核として空気中には放出されにくい可能性が示唆され、このことが MAC のヒト-ヒト感染が成立しない要因となっていることも考えられる。

当大学では医学部と病院が別棟で距離的にも離れているため、病棟実習開始時の医学部学生の保菌状態は医療従事者と比較し一般健常人に近いと思われる。平成 8-9 年には極めて低率であった鼻腔の MRCNS 保菌率の急激な上昇が見られた。さらにデータには示さないが、これに比例して手指に MRCNS を保有する学生も急増している。当初は病棟実習開始後の病院内での新たな保菌を疑ったが、病棟実習開始時の病院環境に暴露されていない学生でもその保菌率に変化は無かった。医学部以外の学生の調査も必要と思われるが、経年的なデータからは、一般居住環境における薬剤耐性菌の増加が疑われる。また、以前は見られなかった MRSA が平成 14 年度から医学部学生の鼻腔から検出されており、MRCNS と同様に MRSA も一般環境に拡散している可能性もあり、今後の動向に注意が必要である。また、咽頭ぬぐい液においても、PRSP、BLNAR タイプのインフルエンザ菌などの薬剤耐性菌が低率ながら検出されていることは、これらの薬剤耐性菌が居住環境内で咳、くしゃみ等を介した飛沫感染により拡散する可能性が考えられる。

IPA は極めて死亡率が高く、最新の抗真菌薬を用いた治療でも致死率が約 50%であり、発症の予防対策が必要である。糸状菌は分生子を形成し空中を浮遊することから、病院周辺の道路工事や病院自体の工事により分生子の飛散量が増し、IPA の発症率が上昇すると推察されるが (Lentino et al. *Am J Epidemiol.* 1982、Sarubbi et al. *Am Rev Respir Dis.* 1982;、Arnow et al. *Am Rev Respir Dis.* 1978、Rose et al. *Am Rev Respir Dis.* 1972)、否定的な見解もあり (Goodley et al. *J Hosp Infect* 1994)、報告された結果は一定ではない。今回の調査では工事期間中は隣接する病院環境で屋外、室内共に粉塵量が増加する傾

向が認められた。しかし、浮遊微生物の状況は必ずしも粉塵量の推移と同じ傾向ではなく、屋外における一般細菌数は粉塵量と無関係であったのに対し、屋内においては粉塵量と相関がみられた。また、浮遊真菌数に関しては、工事の有無よりも特定の場所において多い傾向がみられた。今回の微生物および粉塵の定量的検討からは、必ずしも近辺の工事が環境中の糸状菌の数を増加させる傾向は認められなかった。これらのデータが、工事と非工事による影響であるかを厳密に検討するには、風向きや湿度、屋内空調条件の違いなどを考慮する必要がある。さらに、データを蓄積し、多くのパラメーターを取り入れた検討が今後の課題である。

## E. 結論

特定の薬剤耐性菌、病原菌をマーカーとして、周辺環境の汚染状況や医学部学生の保菌状態の経年変化について検討した。MRSA をマーカーとした場合、汚染状況は保菌者の活動状況により変化し、その他の微生物においても保菌者・キャリアの活動状況により居住環境の汚染の程度は大きく異なることが予想される。またドアノブや水道栓などが食中毒微生物などで汚染されれば家庭における二次感染の原因になる。空気中の細菌も部屋の構造や入室者その他の活動により強い影響を受け、空調や窓などの構造は一般居住環境においても同様に大きな影響を持つことが考えられる。さらにシーツ交換などの一般家庭で行われる行為により、病原微生物が空中に浮遊し、通常とは異なる経路で感染を起こす可能性が示唆された。非結核性抗酸菌は今回の調査結果からは飛沫核として空中に放出されにくい可能性が示唆され、本菌の感染経路に大きく影響している可能性がある。

医学部学生の調査ではこの数年で急激に MRCNS を鼻腔に保菌する学生が増加しており、一般環境への MRCNS の拡散が疑われた。

建築物解体中の調査では工事期間中は隣接する病院環境で屋外、室内共に粉塵量が増加する傾向が認められたが、今回の微生物および粉塵の定量的検討からは、必ずしも近辺の工事が環境中の糸状菌の数を増加させる傾向が認められなかった。

## F. 研究発表

1. 論文発表  
該当するものなし
2. 学会発表  
該当するものなし

## G. 知的所有権の取得状況

該当するものなし

平成 15 年度厚生労働科学研究費補助金（がん予防等健康科学総合研究事業）  
「居住環境に基づく感染症疾患とその予防に関する研究」  
分担研究報告書

居住空間における細菌性疾患とその予防に関する研究

分担研究者 山口恵三 東邦大学医学部微生物教室教授  
研究協力者 大野 章 東邦大学医学部微生物教室

### 研究要旨

平成 14 年度における文献調査等の成果により、居住空間における一般細菌調査の対象を保育園とし、エアースンプラーで採取した保育室の空気 1000L 中の総細菌数、培養可能な細菌数を調べ、また培養された細菌の同定、抗菌薬感受性を自動細菌同定抗菌薬感受性機器を用いて行なった。

調査に選んだ保育園は、大学病院附属保育園 2 箇所、一般保育園 3 箇所の計 5 箇所とした。その結果、空気中には培養不能な細菌が多数存在し、コロニーが形成されるのはその一部であることが推測された。また 2 つの大学病院附属保育園のうち一つから、複数種のメチシリン耐性コアグラウゼ陰性ブドウ球菌（MRCNS）が高率に検出された。しかしもう一方の大学病院附属保育園からは特に高率には MRCNS は検出されなかった。一方 3 箇所の一般保育園のうち 2 箇所の一般保育園から、低率ながら MRCNS が検出された。MRCNS が検出された保育園園児の父母の一部は、医療関係従事者であった。父母に医療関係従事者が見られない保育園からは MRCNS は検出されなかった。

医療従事者を父母に持つ保育園保育室空気中で MRCNS が検出された原因は現時点で不明であるが、勤務先の医療機関環境が MRCNS で汚染されていて、医療従事者である父母から園児を介して、あるいは直接父母を介して保育園環境に持ち込まれた可能性は否定できない。さらに 2 箇所の大学病院附属保育園間で MRCNS の分離頻度が相違した結果は、それぞれの大学病院環境における MRCNS 汚染の程度を反映しているのかもしれない。一方医療機関からの MRCNS の持ち込み以外に、すでに一般環境が MRCNS で汚染されている可能性も考えられる。

次年度は、高率に MRCNS を分離した大学病院院内の MRCNS 汚染調査を行い、保育園由来分離株との遺伝的同一性の比較や、一般環境での MRCNS 汚染の実態も検討し、抗菌薬耐性遺伝子の居住空間における拡散予防について考察する予定である。

### A. 研究目的

居住環境に基づく一般細菌感染性疾患とその予防に関する研究の中で、平成 14 年度の文献調査の結果をもとに、以下の二つの理由から調査対象を保育園とした。理由：  
1) 昼間人口の多数を占めるオフィスビルなどでの一般細菌感染事例は文献的にも見られない、従って特定の細菌に焦点を当て

研究するのは不可能である、2) 免疫能の十分成熟していない幼児が多数居住する保育園では、感染症発生の潜在的危険性を持つ。

本研究は、保育園児室内環境中の居室空気  
に焦点を当て、一定の空気容量中に存在する一般細菌についての調査を行なうこととした。

空気を調査対象とした理由は、ビルで見られる微生物などによる sick house syndrome の原因が、換気条件の要因に基づいていること<sup>2)</sup>、また空気ということで、一定の共通条件が得られ、施設間の比較がしやすいことによる。

## B. 研究方法

### 1. Sampling

エアサンプラー(BIOSAMP; ミドリ安全株式会社)を用いて、保育室内の空気を1.5%寒天 20m l を加え固めたシャーレ上に、10min, 1000L の条件で吸引した。保育室は一つの保育園で3箇所とした。

寒天プレート上に衝突した微生物をPBS(pH7.4)10ml にて回収した。

### 2. 細菌数測定

生きてはいるが、コロニーを形成できない細菌の存在を明らかにするため、総細菌数、生細菌数、コロニー形成細菌数を測定し、空気中の細菌の生理状態を検討した。

#### 1) 総細菌数、生細菌数の測定

細菌数は、*BacLight bacterial viability kit* (Molecular Probes, Inc.Eugene)を用い測定した。本方法により生きている細菌細胞は緑色に染まり、死んでいる細胞は赤色に染色される<sup>3)</sup>。総細菌数は生きている細菌数と死んでいる細菌数の総和とした。

#### 2) 培養可能細菌数の測定

羊血液寒天平板(ポアメディア; 栄研化学)を用い、サンプル0.1ml を培地上に塗布し、35°Cで48時間培養し1ml 中のコロニー形成細菌数を測定した。また培養されたコロニーについて、大きさ、形態、色調など酷似するものを同一菌種と推定し、それぞれのコロニー数を測定し、菌種ごとの菌数を算

出した。

また特定の細菌群の検出を目的として羊血液加CNA寒天培地、DHL寒天培地、メチシリン耐性ブドウ球菌検出用培地、インフルエンザ菌検出用寒天培地を用いた。

### 3) 菌種の同定

代表的コロニーについて、それぞれ3から5コロニーを純培養し、グラム染色を行なった。グラム染色の結果に基づいて、自動細菌同定抗菌薬感受性機器 Phoenix 100(日本ベクトンディッキンソン株式会社)による菌種同定および抗菌薬感受性測定を行なった。

### 4) メチシリン耐性遺伝子の検出

Louie らの方法により、PCR を行い *nucA* および *mecA* の検出を行い、メチシリン耐性コアグラゼ陰性ブドウ球菌であることを確認した<sup>4)</sup>。

## C. 結果および考察

### 1. 総菌数、生菌数、培養菌数

大学病院附属施設1の総菌数、生菌数、培養菌数の結果を Fig. 1 に示した。

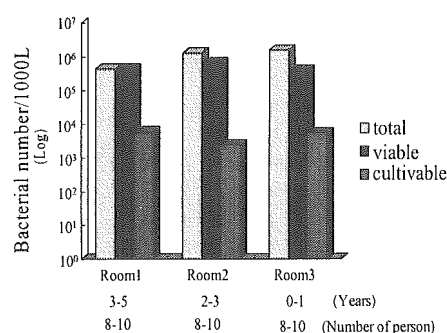


Fig.1 Total, viable and cultivable numbers of bacteria in 1000L of indoor air at each room in children attending day care centre

この結果から、総菌数および生菌数の数に比べ、培養された菌数は100分の1から1000分の1と少なく、この差の中にある菌は、生きてはいるが培養不能な VNC(Viable

but not cultivable)の状態にあることが疑われた。結果には示さないが、他保育園においても、同様の成績が示されている。乾燥した状態の空気中では、細菌は VNC 状態に移行しやすいとの研究結果もある<sup>5)</sup>。

一方 VNC 状態の証明は、熱や活性酸素スカベンジャー処理などにより培養能が復活することが一つの条件であるとされるが、今回は活性酸素スカベンジャーの一つカタラーゼ処理を行なったが、コロニー形成細胞数の有意な増加は認められなかった（成績未提示）。今後さらに検討する必要があるが、空気中の多数の菌が VNC 状態にあるとすれば、今後の空気中細菌検査方法はその方法論も含め、再検討する必要があるだろう。

## 2. 菌種同定

- 1) A 大学病院附属保育園保育室空気中における菌種同定結果  
同定結果を Table1-a~c に示した。

Table1-a Bacterial species isolated from room1 in A university-affiliated preschool

<i>Staphylococcus hominis</i>	} Methicillin-resistar Dominant
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	
<i>Staphylococcus capitis ssp. capitis</i>	
<i>Staphylococcus cohnii ssp. cohnii</i>	
<i>Staphylococcus kloosii</i>	
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	
<i>Staphylococcus chromogenes</i>	
-----	
<i>Kocuria rosea</i>	
<i>Micrococcus luteus</i>	
<i>Streptococcus salivarius ssp. salivarius</i>	
<i>Gemella ssp.</i>	

Table 1-b Bacterial species isolated from room2 in A university-affiliated preschool

<i>Staphylococcus capitis ssp. ureolyticus</i>	} # Dominant
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	
<i>Staphylococcus cohnii ssp. cohnii</i>	
<i>Staphylococcus hominis</i>	
<i>Corynebacterium urealyticum</i>	
-----	
<i>Leifsonia aquatica</i>	
# Methicillin-resistant	

Table 1-c Bacterial species isolated from room3 in A university-affiliated preschool

<i>Corynebacterium bovis</i>	} Dominant
<i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i>	
-----	
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	} Methicillin-resistant
<i>Staphylococcus hominis</i>	
<i>Micrococcus luteus</i>	
<i>Streptococcus acidominimus</i>	
<i>Kocuria rosea</i>	
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	

A 大学病院附属保育園においては、保育室 1 および 2 で MRCNS が優勢に分離された。また *Micrococcus spp.*, *Corynebacterium spp.* が分離されているが、これは人間の皮膚常在菌由来と考えられる。さらに保育室 3 からは *Stenotrophomonas maltophilia* が分離されている。本菌は環境菌であるが、多くの抗菌薬に自然耐性を示す代表的な病院内日和見感染原因菌の一つとして重要である。

保育室 1 および 2 から優勢に分離された MRCNS に対するオキサシリンの微量液体希釈法による MIC 値の結果、並びにメチシリン耐性が *Mec* 遺伝子によるものかどうか(*mecA* の存在)、同時にコアグラゼ陰性



ブドウ球菌であるかどうか(*nucA* の非存在)を multiplex PCR により確認した結果を Table2 に示した。すべての株は *mecA* を保有し、また黄色ブドウ球菌に特有の *nucA* 遺伝子を保有せず CNS であることが確認された。さらに保育室2における *S.epidermidis* の1株を除いてオキサシリン高度耐性を示した。

Table 2 MIC determination of oxacillin by micro-broth dilution method to MRCNS isolates identified by Phoenix 100, and the detection of *mecA* and *nucA* by PCR method

Isolate	Oxacillin MIC ( $\mu$ g/ml)	<i>mecA</i>	<i>nucA</i>
<i>S. hominis</i>	>256	+	-
<i>S. capitis ssp. capitis</i>	64	+	-
<i>S. kloosii</i>	256	+	-
<i>S. chromogenes</i>	128	+	-
<i>S. epidermidis</i>	1	+	-
<i>S. saprophyticus</i>	128	-	-
<i>S. saprophyticus</i>	128	+	-
<i>S. saprophyticus</i>	256	+	-
<i>S. saprophyticus</i>	256	+	-
<i>S. haemolyticus</i>	256	+	-
<i>S. cohnii ssp. cohnii</i>	256	+	-
<i>S. hominis</i>	>256	+	-
<i>S. epidermidis</i> ATCC29886	NT	-	-
<i>S. aureus</i> ATCC29213	0.25	-	+
MRSA 278(clinical isolate)	>256	+	+

A 大学病院附属保育園において優勢に MRCNS が分離されたことは、今回の調査で得られた大きな特徴であった。そのため本大学病院附属保育園における MRCNS の空気汚染が、大学病院附属保育園の多くに特有のものか、あるいはすでに市中環境において広く MRCNS が分布しているのかを知る必要が生じ、一般保育園および他大学病院附属保育園で同様の調査を行なった。

## 2) 一般保育園における保育室空気中における菌種同定結果

一般保育園 A の菌種同定結果を Table3 に、保育園 B の結果を Table 4 に、さらに保育園 C の成績を Table 5 に示した。

Table 3 Results in A general preschool

Room 1 For Infants aged one year 18 persons	Gram +	<i>Staphylococcus epidermidis</i> * MRCNS <i>Staphylococcus haemolyticus</i>
	Gram -	<i>Gemella morbillorum</i> <i>Shewanella putrefaciens</i> - Dominant <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> <i>Pantoea agglomerans</i>
Room 2 For Infants aged two years 14 persons	Gram +	<i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Staphylococcus lugdunensis</i>
	Gram -	<i>Micrococcus luteus</i> - Dominant <i>Pasteurella pneumotropica</i>
Room 3 For Infants aged three years to four years 62 persons	Gram +	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus carnosus</i> <i>Staphylococcus hominis</i> <i>Micrococcus luteus</i> - Dominant <i>Alloicoccus otitidis</i> <i>Lefsonia aquatica</i>
	Gram -	* parents of three children are nurse <i>Shewanella putrefaciens</i> <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> <i>Myroides odoratus/doratumimus</i> - Domina <i>Pantoea agglomerans</i> <i>Comamonas testosteroni</i> <i>Acinetobacter baumannii</i>

Table 4 Results in B general preschool

Room 1 For Infants aged two year 16 persons	Gram +	<i>Staphylococcus lugdunensis</i> <i>Staphylococcus capitis ssp. capitis</i> <i>Micrococcus luteus</i> - Dominant <i>Corynebacterium anycolatum/striatum</i>
	Gram -	CDC group EQ-2 - Dominant
Room 2 For Infants aged three year 16 persons	Gram +	<i>Micrococcus luteus</i> - Dominant
Room 3 For Infants aged three year 15 persons	Gram +	<i>Micrococcus luteus</i> - Dominant <i>Brevibacterium species</i> <i>Corynebacterium urealyticum</i>
	Gram -	CDC group EQ-2 - Dominant

Table 5 Results in C general preschool

		About 5 % of parents is medical personnel
Room 1 For Infants aged three year 13 persons	Gram +	<i>Staphylococcus equorum</i> - MRCNS <i>Micrococcus luteus</i> <i>Kocuria varians</i>
	Gram -	<i>Leifsonia aquatica</i> <i>Brevundimonas vesicularis</i> <i>Ralstonia pickettii</i>
Room 2 For Infants aged two year 15 persons	Gram +	<i>Staphylococcus epidermidis</i> - MRCNS <i>Kocuria varians</i> <i>Micrococcus luteus</i> - Dominant
	Gram -	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Ochrobacterium anthropi</i> <i>Rhizobium radiobacter</i>
Room 1 For Infants aged one year 22 persons	Gram +	<i>Staphylococcus capitis ssp. capitis</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Staphylococcus hominis</i> } MRCNS
	Gram -	<i>Pasteurella aerogenes</i> <i>Acinetobacter baumannii/calcoaceticus complex</i> <i>Shewanella putrefaciens</i>

一般保育園での結果は、保育園児の父母に医療関係者がいるAおよびC保育園で、A大学病院附属保育園に比べ、低率ながらもMRCNSが分離された。しかし父母に医療関係者がいないB保育園ではブドウ球菌は分離されているが、すべてメチシリン感受性株であった。この結果は、A大学病院附属保育園での結果が、医療従事者の親から保育児を介した、あるいは親から直接病院内のMRCNSが保育園環境に持ち込まれた可能性を示唆している<sup>6)7)</sup>。また成績には示さないが、分離されたMRCNSはすべて*mecA*を保有していた。

そこで次に、別の大学病院附属保育園を調査した。

### 3) B 大学附属保育園での菌種同定結果

結果を Table 6 に示した。

Table 6 Results in B university-affiliated preschool

		About 45% of parents is medical per	
Room 2 For Infants aged under one year 22 persons	Gram +	<i>Staphylococcus cohnii</i> spp. <i>cohnii</i> - MRC <i>Genella morbillozum</i> <i>Dermacoccus nishinomiyensis</i> <i>Kingella denitrificans</i> <i>Corynebacterium urealyticum</i>	
	Gram -	<i>Eikenella corrodens</i> <i>Pasteurella pneumotropica</i> <i>Acinetobacter species</i>	
Room 1 For Infants aged one year 30 persons	Gram +	<i>Staphylococcus hominis</i> - MRCNS <i>Micrococcus luteus</i>	
	Gram -	<i>Pasteurella pneumotropica</i>	
Room 3 For Infants aged two year 36 persons	Gram +	<i>Micrococcus luteus</i> -Dominant <i>Micrococcus lylae</i> <i>Streptococcus mitis</i> <i>Streptococcus acidominimus</i> <i>Alloiooccus otiidis</i>	
	Gram -	<i>Gardnerella vaginalis</i> <i>Sphingomonas paucimobilis</i> <i>Alcaligenes faecalis</i>	

結果に示したように、B大学病院附属保育園保育室空気中からはMRCNSがほとんど分離されなかった。

A大学病院附属保育園保育室空気中から高頻度にMRCNSが分離されたこと、あるいは医療従事者の父母がいる一般保育園でMRCNSが分離された結果と、B大学病院

附属保育園の結果を合わせて考えると、MRCNSにて環境が汚染された病院に勤務する父母のいる保育園においては、その環境が病院から持ち込まれたMRCNSで汚染されている可能性が示唆された。今後A大学病院附属保育園の所属病院院内環境のMRCNS汚染の調査をし、保育園由来株と病院由来株の同一菌種での遺伝的同一性を調べ、以上の推論を実証していきたい。

また市中環境中からメチシリン耐性ブドウ球菌が分離されているとの報告もあり<sup>8)</sup>MRCNSがどの程度市中環境に分布しているかの調査と合わせ、免疫能の未成熟な幼児が集中する保育園環境での抗菌薬耐性菌の動向と予防についての対策を考え、次年度の研究に繋げていくこととする。

### 文献

- 1) Fogarty J.: Infectious disease risk in creche, day-care and pre-school. Ir Med J. 1996,89:210, 212.
- 2) Teeuw KB, et al.: Airborne gram-negative bacteria and endotoxin in sick building syndrome. A study in Dutch governmental office buildings. Arch Intern Med 1994,154:2339-45
- 3) Boulos, L., M. Prevost, B. Barbeau, J. Coallier, and R. Desjardins. LIVE/DEAD BacLight : application of a new rapid staining method for direct enumeration of viable and total bacteria in drinking water. J Microbiol Methods, 1999,37:77-86.
- 4) L. Louie, S. O. Matsumura, E. Choi, M. Louie, and A. E. Simor: Evaluation of Three Rapid Methods for Detection of Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus*. J Clin

Microbiol. 2000, 38:2170-2173

5) Heidelberg JF, Shahamat M, Levin M,  
Rahman I, Stelma G, Grim C, Colwell RR.

:Effect of aerosolization on culturability and  
viability of gram-negative bacteria. Appl  
Environ Microbiol. 1997, 63:3585-3588

6) Szewczyk EM, Piotrowski A, Rozalska M.:  
Predominant staphylococci in the intensive care  
unit of a pediatric hospital. J Hosp Infect. 2000,  
45:145-54

7) Ashimoto A, Hamada T, Adachi A, Tanigawa  
T, Tanaka Y.: Molecular epidemiology of  
Staphylococcus spp. contamination in the ward  
environment: study on mecA and femA genes  
in methicillin-resistant strains. Kansenshogaku  
Zasshi. 1995 69:15-20

8) 山田千波、片山裕美子、村田容常、本間  
清一、花木秀明、平松啓一.:  
都市生活環境中のメチシリン耐性  
*Staphylococcus aureus*(MRSA)の調査と性質  
日本家政学会誌. 2000, 51: 215-221

人畜共通感染症に関する研究－建築物衛生の観点から

分担研究者 池田耕一 国立保健医療科学院 部長  
協力研究者 柳 宇 国立保健医療科学院 主任研究官  
協力研究者 阪口雅弘 国立感染研究所 主任研究官

研究要旨

2004 年 2 月に東京都内にあるイヌを飼っている住宅 2 軒とペットを飼っていない住宅各 2 軒計 4 軒を対象に、パストツレラ属菌とイヌアレルギーを中心とした室内空気環境の調査を行った。調査の結果、パストツレラ属菌については、居住者の口腔内、室内空气中、床堆積じん中の何れにおいても検出されなかったが、全てのイヌの口腔内から *P. canis* または *P. dagmatis* が検出された。イヌアレルギー Can f1 については、ペットを飼っていない住宅内は検出限界値以下になっているのに対して、イヌを飼っている住宅内は 1g 堆積じん当たり 100~1000 $\mu$ g が定量化された。このレベルは同時に調査を行ったダニアレルギー Der1 よりも 1~2 桁が高い。また、ペットを飼っている住宅内の浮遊微生物粒子と浮遊アレルギー粒子に関する 1 $\mu$ m 以上の浮遊粒子濃度はペットを飼っていない住宅のそれより高い値を示した。

次年度では、まず測定時期、対象室、ペットの種類、パストツレラ属菌の測定方法などを検討する。次に、パストツレラ属菌を含めた住宅内浮遊微生物粒子と浮遊アレルギー粒子の飛散量を測定により把握したうえで、居住者の被曝量を推定し、建築物衛生の観点からその対策を検討する。

## 1. 研究目的

この十数年間パストツレラ症（Pasteurellosis）が約 10 倍に増加している<sup>1)</sup>。パストツレラ症は、病原体パストツレラ（*Pasteurella*）属菌により引き起こされる日和見感染の傾向のある感染症のことを言い、1 種の重要な人畜共通感染症である。パストツレラ属菌は 1 $\mu$ m 前後の通性嫌気性のグラム陰性桿菌で、多くの哺乳動物の常在菌として知られ、ネコの口腔内にはほぼ 100%、イヌの口腔内には約 75%が検出されるほど高い率に常在していると言われている<sup>2)</sup>。また、*P. multocida* による呼吸器感染症では、約 20%の症例は動物との接触が確認されず、または接触確認されても咬傷などが少ないことから、吸入による感染が主な経路と考えられている<sup>3)</sup>。一方、近年アレルギーの増加にペットアレルギーが一原因であることが指摘されている<sup>4)</sup>。

近年のペットブームによる飼育動物数が多くなり、動物が使役ではなく家族の一員として受け入れられ、ヒトと共存するようになった生活スタイル側面の変化がパストツレラ症、またはアレルギーの増加に影響を及ぼす一方、居住環境の気密化もそれに拍車をかけたのではないと思われる。

そこで、今年度ではイヌを飼っている住宅 2 軒とペットを飼っていない住宅 2 軒計 4 軒を対象に、パストツレラ属菌とイヌアレルギーを中心とした室内空気環境の調査を行い、その調査結果より、パストツレラ属菌、イヌアレルギーの汚染実態を把握するとともに、同時に行った換気量・温湿度・総菌・真菌などの調査結果との関係を検討し、次年度の詳細な調査を適正に行うための基礎資料を得ることを目的としている。

## 2. 研究方法

### 2.1 調査対象住宅の概要

2004 年 2 月にイヌを飼っている住宅 2 軒（表-1 中の B 宅と C 宅）、比較対照となるペットを飼っていない住宅 2 軒（A 宅、D 宅）計 4 軒について調査を行った。測定対象室は何れも居間とした。

### 2.2 測定項目と測定装置

測定項目と測定装置を表-2 に示す。浮遊微生物の測定には、一般的に慣性衝突原理を利用した測定器が用いられている。今まで殆どの測定器は、1 $\mu$ m 以下の小さい粒子に対して、衝突捕集率が