

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年6月7日現在

機関番号：13902

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K16574

研究課題名(和文) 学校での感染症対策の有効性を明らかにするための微生物網羅解析

研究課題名(英文) Comprehensive microbiological study to prevent spread of infectious disease in schools

研究代表者

岡本 陽 (Okamoto, Akira)

愛知教育大学・教育学部・准教授

研究者番号：60436996

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：学校ではしばしば感染症が流行する。そこで学校での感染症を抑制する目的で、(1) 手洗いやうがいなどの分子生物学的エビデンス、および(2) 欠席数を指標とした環境消毒による感染症流行の抑制効果の2点について研究を行った。その結果、手洗いやうがいにより体表の微生物相が変動することが分子生物学的に明らかになった。また、消毒薬を用いた環境消毒は、学校内における感染症の伝播を抑制する可能性が示唆された。以上の結果から、学校での感染症流行を抑制するエビデンスの一端を明らかにすることができた。

## 研究成果の学術的意義や社会的意義

学校において、感染症の流行の抑制を目的として、手洗いやうがいの指導が生徒たちにされている。同様に、特に感染症の流行時期において、環境消毒を行うことが推奨されてきた。これまでこれらの行動について科学的なエビデンスやメカニズムが検討されてこなかったが、本研究によりその一端が明らかとなった。一般的に指導されるうがいや手洗いなどの衛生行動において、ある程度の根拠をもって説明することが可能になったと考えられる。また環境消毒についても、学校内のどの部分が潜在的なリスクとなり、どのような消毒あるいは清掃を行えばそのリスクを低減することができるのかを示すことで、より効率的な運用が期待される。

研究成果の概要(英文)：In schools, infectious diseases are often spread among children. To prevent spread of infectious diseases in schools, we investigated about (1) evidence for hand washing and gargling with molecular microbiologic technique, and (2) effect of disinfection to prevent infection in schools. The result suggested that both hand washing and gargling affect microbiome of skin and pharynx surface. And it suggested that the environmental hygiene with disinfectants prevent spread of infection in schools.

These results suggested that we revealed a part of evidences to prevent spread of infectious diseases in schools.

研究分野：微生物学

キーワード：学校感染症 消毒 欠席調査

1. 研究開始当初の背景

・地域における感染症流行のハブとして機能する学校

学校は生徒・児童が集団で生活をするため、しばしば感染症が流行する。バックグラウンドの異なる各家庭から持ち込まれた病原体は、学校という場を介して他の児童生徒に感染し、他の家庭へ伝播し、最終的に地域社会に市中感染が広がる。つまり学校は地域の感染症流行のハブとして機能し、市中感染を拡大させている恐れがある(南里, 2005, 廣津, 2010)。

・学校における感染症対策

文部科学省「学校において予防すべき感染症の解説」(文部科学省, 2013)によると、消毒や殺菌により感染源を絶つこと(感染源対策)、手洗いなどによる感染経路の遮断(感染経路対策)、および適切な栄養摂取や適度な運動などにより宿主の抵抗力を高めること(感受性対策)の3つの教育と実践が学校現場における感染症流行の抑制に重要であると位置付けている。このうち養護教諭が中心となって

(1)手洗いや喉うがい(以下、単に「うがい」とする)などの感染経路対策の指導と実践、また

(2)感染症の流行時期などには頻回接触部分の消毒などによる感染源対策が行われている。しかし、これらのメカニズムに不明な点が多く残されている。

・感染対策のエビデンスは不十分である

感染源対策として学校現場で行われる積極的な器物消毒について、推奨されているもののその効果についてはこれまでに検証されていない。

また感染経路対策である手洗い・うがいについてもエビデンスは不十分である。例えば院内感染を防ぐための医療現場における手術時手洗いは必要不可欠であることが検証されているが(Kampf et. al., 2004, Borges LF et. al, 2007)、これがより一般的な衛生的手洗いにそのまま適用されるのかどうかは検証されていない。うがいについても同様で、疫学的な調査により風邪症候群やインフルエンザの抑制に効果が期待されるが(Satomura et. al., 2005, Kitamura et. al. 2007)、メカニズムについては明らかになっていない。

・予備研究から得られた感染経路対策による「微生物フローラの変化」仮説

そこで我々は手洗いやうがいなど感染経路対策の有効性を明らかにするため、手洗いおよびうがい前後での菌数と、構成する菌の種類(フローラ)の変化を観察した。その結果、手洗いおよびうがいは必ずしも菌数を減らすものではなかった。右に示す通り、消毒石けんを用いた手洗いでは必ずしも菌数は減少しなかった(図1)。うがいでも同様の傾向であった(図2)。これは、もともと人体の表面にはおびただしい数の微生物が常在しており、数回の物理的洗浄ではその数を減少させることはできないためであると考えられた。しかしながら、そのフローラを構成している生物種のいくつかを比較したところ、手洗い前は常在菌を多く含むブドウ球菌属の他に、バチルス属やシュードモナス属など病原性を有する種が含まれる菌属が見られたが、手洗後は常在菌であるブドウ球菌属が優位になっていることが示された。この結果から、手洗いやうがいは微生物数の減少というよりも、病原菌を含む通過菌を除去することが主目的であるという仮説が導かれた。

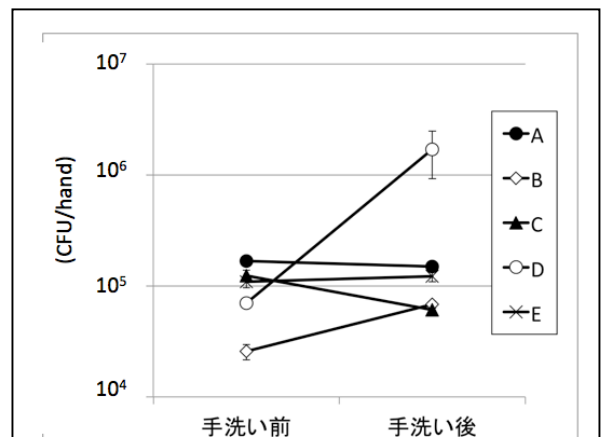


図1. 衛生的手洗いではかならずしも菌数は減少しない

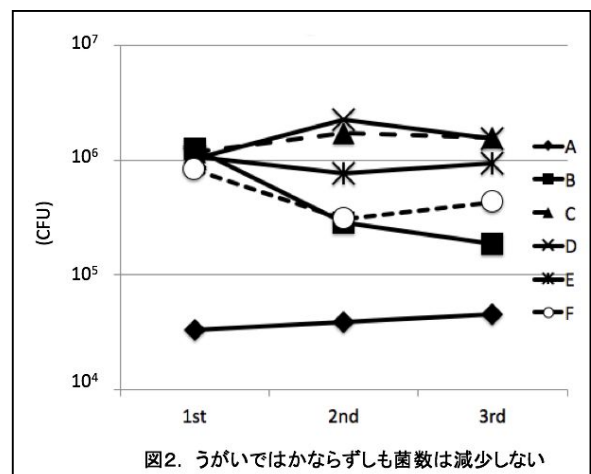


図2. うがいでかならずしも菌数は減少しない

## 2. 研究の目的

学校はバックグラウンドの異なる児童生徒が集団生活を送るため、しばしば感染症が流行する。そのため学校は地域におけるアウトブレイクのハブとして機能していると危惧されている。そこで学校では感染の流行を抑制するために(1)ヒトに対しては手洗いやうがいなどの感染経路対策、また(2)積極的な器物消毒による感染源対策などが重要とされているが、それぞれのエビデンスや評価項目については明らかになっていない点が多い。

そこで本研究では(1)手洗いやうがいの有効性を明らかにし、また(2)実際の学校現場に介入し器物消毒の有効性を明らかにすることで、安全な学校環境の形成に役立てたい。

## 3. 研究の方法

### (1)感染経路対策

衛生的手洗い、及びうがいによる微生物フローラの質的、量的な変化をメタゲノム解析を軸とする分子生物学的手法により検討した。

#### 感染経路対策の菌相解析

手洗い、及びうがいによる通過菌の除去効果を評価するため、次世代シーケンサー(NGS)による体表の微生物フローラの比較メタゲノム解析を行った。

手洗いについては被験者に消毒成分が含まれる石けんを用いて通常の手洗いを実施させ、その前後での手掌部の微生物をグローブジュース法で回収した。うがいについては、被験者に水道水を用いた喉うがいを実施させ、吐液を回収した。検体は分析まで凍結保存した。またこの際に、寒天培地を用いた生菌数の測定も行った。

回収した検体から全微生物の核酸を精製し、全DNAまたは全RNAサンプルとした。

メタゲノム解析により、各検体のフローラの質的变化を比較した。16SrRNA 遺伝子の v3-v4 保存領域をターゲットとしたデータ取得は受託分析にて行った。

ここで得られた塩基配列構造から Operation taxonomy unit を作成し、データベースと照会して類似度検索を行い、微生物フローラの比較を行った。

また上記菌相の量的変化について、差が見られた菌種の特異的プライマーを設計し、絶対量をリアルタイム PCR を用いた定量 PCR 解析 (qPCR) を試みた。

#### PCR による病原体の検出

メタゲノム解析では細菌のみが対象となるが、手洗いやうがいによりウイルスが除去されているのかどうか、PCR によるウイルス由来の核酸の検出も試みた。用いたプライマーセットは A 型インフルエンザウイルス、B 型インフルエンザウイルス、ノロウイルス、ロタウイルス、エンテロウイルス、RS ウイルス、ヒトメタニューモウイルス、ライノウイルス、アデノウイルスの 9 ウイルス、ならびに肺炎球菌、化膿レンサ球菌、インフルエンザ菌、マイコプラズマ、肺炎クラミジア、レジオネラ属の 6 細菌種をターゲットとした。

### (2)感染源対策

実際の学校現場において積極的な器物消毒を行い、欠席率の調査、また実際の微生物学的汚染度の両面から検討することで感染症の流行を抑制する効果があるのかどうかを明らかにした。愛知県内の小規模小学校を対象とし、近隣の同規模小学校には積極的な環境消毒を行わずに対照群として比較した。

#### 感染源対策のエビデンスと評価

愛知県内の小学校を対象に、インフルエンザ、および風邪症候群の流行時期である冬季を中心(10月から翌年3月)に、次亜塩素酸(30 ppm)を有効成分とする消毒剤を用いた頻回接触部分の積極的な器物消毒(学校の営業日につき毎日)を行った。頻回接触部分としては階段の手すり、電灯のスイッチ、扉の取手、蛇口のハンドルなどを対象とした。

同時に微生物学的汚染度の調査として、培養法による微生物の検出も実施した。

#### 欠席者数を指標とした環境消毒の効果の分析

器物消毒による感染症抑制効果を明らかにするため、児童生徒の欠席日数を調査した。

## 4. 研究成果

### (1)感染経路対策

#### 感染経路対策の菌相解析

うがいによる感染症予防効果のメカニズムを明らかにする目的で、うがい前後の咽頭細菌叢の変化を中心に実験、解析を行った。その結果、うがいの前後では総微生物数はあまり変化しないものの、ほとんどの被験者において特定の微生物グループの割合が減少していることがわかった。この微生物グループは咽頭に常在しているが病原性をもつもの、また他の感染症の原因となるウイルスの感染を助けることがわかっているものが含まれている。以上の結果から、うがいは微生物数を極端に減らすものではないものの、物理的な洗浄作用により特定の微生物

グループを減少させ、その結果としてかぜやインフルエンザなどの呼吸器感染症を予防する効果が期待できることが示唆された（現在論文作成中）。

#### PCR による病原体の検出

ヒトインフルエンザウイルスやノロウイルスなど、特に学童期の児童・生徒に感染症を引き起こすウイルスをターゲットとした RT-qPCR 検出を試みたが、あらゆる検体から、疾病に関連するウイルス核酸を検出することができなかった。この結果から、健康人には病原性をもつウイルスが普段から付着していることはほとんどないと考えられた。

## (2)感染源対策

#### 感染源対策のエビデンスと評価

学校環境における病原体を含む微生物汚染度の調査を培養法、遺伝学的手法の両方を用いておこなった。その結果、乾燥した表面には微生物は少なく、水道の蛇口など水分が補給される場所に多く微生物が生存していることが明らかとなった（藤井、岡本 et. al., 東海学校保健研究, in press）。

#### 欠席者数を指標とした環境消毒の効果の分析

感染源対策として、学校における消毒薬を用いた積極的な器物消毒による感染症（学校内感染）予防効果を検討するため、児童生徒の欠席数を指標として小規模小学校を介入群と対照群に分けて実験を行った。冬季 2 シーズンの調査を行った結果、1 年目の調査では感染症予防については積極的消毒を行った介入群では対照群と比較して感染者数が有意に低かった。また 2 年目の調査では統計的有意差は得られなかったものの、1 年目の調査と同様、学校内での感染が疑われるケースが介入群ではみられなかった。以上の結果から、消毒薬を用いた積極的な器物消毒は、学校内における呼吸器感染症の伝播を予防する可能性が示唆された（藤井、岡本 et. al., 学校保健研究, 2017）。

## 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 2 件)

内田（藤井）都恵、野久千華、岡本陽、小学校における手指頻回接触面の微生物学的汚染度の調査、査読有、印刷中、2019

藤井都恵、岡本陽、藤井千恵、小規模小学校での児童欠席状況を用いた消毒の効果の評価、学校保健研究、査読有、59 巻、2017、p242-249

〔学会発表〕(計 3 件)

野久千華、藤井都恵、岡本陽、うがいによる喉の微生物数と細菌叢の変化、日本学校保健学会第 64 回学術大会、2017

藤井都恵、野久千華、岡本陽、次亜塩素酸ナトリウムを用いた環境消毒による感染症予防効果、日本学校保健学会第 63 回学術大会、2016

藤井都恵、岡本陽、藤井千恵、小学校における手指頻回接触面の微生物学的汚染度、第 59 回東海学校保健学会、2016

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況（計 0 件）

取得状況（計 0 件）

〔その他〕

なし

## 6 . 研究組織

(1)研究分担者  
なし

(2)研究協力者  
なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。