

スマホ画面から検出される薬剤耐性菌の調査

安川洋生

(令和3年2月1日受理)

YASUKAWA Hiro

Antimicrobial-Resistant Bacteria on Smartphones

1. はじめに

薬剤耐性菌は世界各国に広がっており、このまま有効な対策が執られなければ2050年には1000万人もの人々が薬剤耐性菌により命を落とすとされる(オニールレポート)。こうした危機的状況に対し、2015年の世界保健総会において「薬剤耐性対策グローバル・アクションプラン」が採択された。日本ではその翌年にアクションプランが策定され、国民が協働し集中的に取り組むべき対策がまとめられた。このアクションプランでは目標の一つとして「国民の薬剤耐性に関する知識や理解を深め、専門教育等への教育・研修を推進する」ことを掲げており、そのための具体的な取り組みの一つとして中学校・高校の生徒を対象に「感染症対策及び医薬品を正しく使用することの必要性に関する教育の推進」を求めている。

教員を志す教育学部生が薬剤耐性菌についてどの程度認識しているのかを知るために、岩手大学教育学部の講義の一つにおいて(2018年度後期～2020年度前期,計199名)、「薬剤耐性菌という言葉聞いたことがありますか」と訊いたところ「はい」と答えた学生は33名(17%)であった。また、同じ講義にて(2020年度前期,49名)、「処方されたお薬は指示通りに最後まで服用しますかか」と尋ねたところ19名(39%)は「回復したらもう服用しない」とのことであった(処方通り服用することが望ましい)。これらの結果から、教育学部生

には卒業までに薬剤耐性菌について学ぶ機会を設けることが必要であると思われた。

そこで教育学部生に対する教育の一環として、薬剤耐性菌が身近な生活環境中にも存在することを認識させることから始めた。そのために、学生のスマートフォン(以下、スマホ)と、学部棟内のハンドドライヤーを対象に薬剤耐性菌の調査を行ない、その結果を報告してきた⁽¹⁾⁻⁽⁵⁾。本稿ではスマホを対象とした調査について、報告済みの結果に加えて現在までの結果を報告する。

2. 方法

2.1. サンプルングと培養

スマホ画面に付着する薬剤耐性菌の調査を、岩手大学教育学部生を主とした74名を対象に実施した。学生には調査の意義を伝え、次に、スマホ画面から薬剤耐性菌を含む微生物が検出されるであろうことと、それらの微生物が直ちに健康被害を及ぼすものではないことを説明した。その際に、躊躇する様子を見せた学生や拒否を申し出た学生に対しては、説得することも再考を促すこともしなかった。

同意の得られた学生について、次の手順に従ってサンプルングし培養した。

- ① 滅菌綿棒にてスマホ画面を拭き取らせた。
- ② 綿棒を回収し、付着した微生物をSCD培養液に懸濁し、終夜培養した。

*岩手大学教育学部教授

- ③ 滅菌済みの5本の三角フラスコにSCD培養液を10mLずつ入れ、そこに②で培養した試料を10 μ Lずつ添加した。
- ④ 5本中の4本にはアンピシリン (ABPC), テトラサイクリン (TC), ストレプトマイシン (SM), リファンピシン (RFP) のいずれかを添加した(終濃度12.5 μ g/mL)。1本については対照として抗菌薬を加えなかった。
- ⑤ すべての三角フラスコを振盪培養した後、培養結果を記録し、増殖のみとめられた試料について遠心分離により微生物を回収した。

2. 2. DNA試料の調製と解析

TCを含む培養液で増殖がみとめられた試料と、ABPCを含む培養液で増殖がみとめられた試料について、DNA抽出キットversion 2 (Kaneka) を用いて溶解しDNA粗抽出液を調製した。この一部を滅菌イオン交換水にて10³ ~ 10⁴倍に希釈しPCRに供した。

細菌に特異的な16S rDNAの検出にはBacterial 16S rDNA PCR Kit Fast (800) (Takara Bio) を用いた。TC耐性因子 (*tet(A)*, *tet(B)*, *tet(C)*, *tet(D)*, *tet(E)*, *tet(G)*, *tet(H)*, *tet(J)*, *tet(K)*, *tet(L)*, *tet(M)*, *tet(O)*, *tet(S)*, *tetA(P)*, *tet(Q)*, *tet(X)*) の検出にはKOD One PCR Master Mix (Toyobo)を用いた。プライマーは既報に記載の通りとした⁽⁵⁾⁻⁽⁷⁾。AmpC型 β ラクタマーゼファミリーの検出にはシカジーニアスAmpC遺伝子型検出キット (Kanto Chemical) を用いた。

3. 結果と考察

調査結果を表に示す。「+」は培養液中に微生物の増殖がみとめられたことを示す。なお、微生物の増殖がみとめられなかった場合も、培養条件が増殖に適していなかったという可能性が排除できないため、この結果のみを以て微生物が存在しなかったとは判断していない。

調査したスマホ74台中の58台 (78%) については抗菌薬を含まない培養液で微生物の増殖がみとめられ、学生の使用するスマホの多くに微生物が付着していることが分かった。一方、抗菌薬を含

む培養液で微生物の増殖がみとめられたのは、74台中の28台 (38%) であった。増殖した微生物は(抗菌薬に耐性か否かに関わらず)学生の表皮の常在菌や手指を介して付着した環境中の微生物、及び通話の際に付着した口腔内の微生物であろうと思われる。

SM耐性とRFP耐性は細菌の特定の遺伝子の変異によってもたらされることが多い。一方、TC耐性とABPC耐性に関与する因子には様々な種類があり、検出されたTC耐性菌とABPC耐性菌がどの耐性因子を有しているのかを確認することは研究を進める上で極めて重要である。そこで、TCを含む培養液で増殖した微生物(3台のスマホに由来する)と、ABPCを含む培養液で増殖した微生物(16台のスマホに由来する)を回収してそれらのDNAを解析した。

TCを含む培養液で増殖した微生物については、現在までに知られているTC耐性因子の内の16種類に注目して、それらを個々に検出するプライマーセットでPCRした。その結果、*tet(K)*を検出するプライマーセットで明瞭な増幅産物が確認された。増幅産物を精製してシーケンシングしたところ、それらの塩基配列はいずれも*tet(K)*の該当する領域の塩基配列と一致した⁽⁵⁾。なお、*tet(K)*は細菌内に入ったTCを菌体外に排出するタンパク質をコードしており、これを有する薬剤耐性菌はヒトや動物からも環境中からも検出される。

ABPCを含む培養液で増殖がみとめられた微生物については、AmpC型 β ラクタマーゼファミリーを標的としたPCRにていくつかの明瞭な増幅産物のみとめた (data not shown)。なお、確定にはさらなる解析を要す。

本調査により、教育学部生の身近に薬剤耐性菌が存在することが示された。もちろん、これらの細菌が必ずしも直ちに健康に被害を及ぼすものではないと思われる。この点も含めて、不安を煽ることなく、薬剤耐性菌に関する正しい知識を教育学部生に伝えることが重要であると考えられる。

謝辞

本研究は科学研究経費基盤C（一般）「生活環境中における薬剤耐性菌の調査と解析」（課題番号18K022350001）の一部として、岩手大学技術部の岡田菜月氏、佐藤千瑛氏、福士祥代氏の協力により行われた。

参考文献

(1) 安川洋生（2020）岩手大学教育実践総合センター研究紀要, 19, pp111-114.
 (2) 安川洋生, 岡田菜月, 福士祥代, 八重樫理称（2020）日本科学教育学会研究会研究報告, 34(6), pp57-60.
 (3) 菅井響, 岡田菜月, 福士祥代, 安川洋生（2020）日本科学教育学会研究会研究報告, 35(2), pp31-34.

(4) 八重樫理称, 岡田菜月, 福士祥代, 安川洋生（2020）日本科学教育学会研究会研究報告, 35(2), pp35-38.
 (5) 安川洋生（2021）岩手大学教育学部研究年報, 80, 印刷中.
 (6) Ng,L.-K., Martin,I, Alfa,M., Mulvey,M. (2001) *Molecular and Cellular Probes*, vol15, pp209-215.
 (7) Fan,W., Hamilton,T., Webster-Sesay,S., Nikoloch,M.P., Lindler,L.E. (2007) *Molecular and Cellular Probes*, vol21, pp245-256.

表1. スマホ画面に付着する薬剤耐性菌の調査結果

No.	-	ABPC	TC	SM	RFP	No.	-	ABPC	TC	SM	RFP	No.	-	ABPC	TC	SM	RFP
1	+				+	26	+	+				51	+			+	+
2	+	+		+		27	+					52	+				
3	+			+		28	+					53	+			+	
4	+					29	+			+		54					
5	+					30	+					55	+			+	+
6	+	+	+	+		31	+					56	+			+	
7						32	+					57	+	+		+	
8	+	+				33	+					58	+	+		+	
9	+					34	+		+	+		59	+	+		+	+
10						35	+					60					
11						36	+	+				61	+	+			
12						37	+					62	+	+		+	+
13						38	+					63	+	+			
14	+					39	+					64	+				
15	+			+	+	40						65	+				
16						41	+					66	+				
17						42	+					67	+				
18	+		+	+		43	+					68	+	+			
19						44	+					69					
20	+					45						70	+				
21						46	+					71	+				
22	+			+		47	+					72	+				
23						48	+	+				73	+	+			
24	+	+		+		49						74	+				
25	+			+		50	+	+		+							