

消毒薬の細菌に対する形態変化の触図教材

筑波技術大学 保健科学部 保健学科 鍼灸学専攻

一幡良利 渡部良平 池宗佐知子

要旨: 全盲学生の微生物学教育は、触図教材を用いた微生物の発育集落やグラム染色後の形態を理解することで一段と進歩した。更に、フォトグラフィーを応用した触図では、走査型電子顕微鏡像によるコアグラールゼ陰性ブドウ球菌の形態を理解できるようになった。今回は消毒薬の常在細菌に対する形態変化を透過型電子顕微鏡で観察し、内部構造を理解できるようになった。全盲学生にとって微生物学教育は、将来医療従事者として感染予防を実践する上で重要な教育であることが証明された。

キーワード: 全盲学生, 微生物学教育, 触図, 消毒薬, 透過型電子顕微鏡

1. はじめに

各種消毒薬に対する細菌の微細構造の変化は透過型電子顕微鏡による観察 [1] がなされている。細菌細胞のどの部位に作用するかにより、各種消毒薬の作用機序を解明するのは興味深い。電子顕微鏡的観察は細菌細胞の構造がそのまま反映するので、形態変化の観察には最適である。細菌類は同定法の一つである染色性に基づき、グラム陽性菌と陰性菌に分けられている。この染色性の相違は細胞壁の化学的組成が著しく異なっているからである。化学的組成の違いは、消毒薬の効果判定と同様に抗菌薬の治療法にも重要な要因となっている。各種消毒薬を作用させて、構造上の変化を肉眼的に観察するのは、微生物学教育上最も重要である。また、医療従事者は自分の使っている消毒薬の評価において細菌細胞の何処に作用機序があるのかを知ることは意義深いし、消毒をよりの確に行うにも必要である。微生物学教育の教材 [2] から細菌の微細構造を知る上で、電子顕微鏡的観察は容易である。視覚障害を有する学生でも微生物を学ぶ上で細菌細胞の内部構造を電子顕微鏡像で理解することは微生物感染症学を把握するのにも役立つものである。

現在、視覚特別支援学校での微生物学教育は普及しているとは言いがたい。しかしながら、本学では常在細菌の培地上での発育集落 [3] から始まり、グラム染色による光学顕微鏡的観察 [4]、更には走査型電子顕微鏡での形態観察 [5] までを、フォトグラフィーを応用した触図教材の使用により理解させている。これら微生物学教育指針は医学部医学科、臨床検査学科レベルと同等である。更に今回は、各種消毒薬に対する細菌の微細構造の変化を透過型電

子顕微鏡で観察し、その形態を触図で理解する目的で本研究を行った。

2. 材料と方法

2.1 使用菌株

常在細菌であるグラム陽性球菌の黄色ブドウ球菌とグラム陰性桿菌の大腸菌を用いた。

2.2 各種消毒薬

消毒用エチルアルコール 100ml 中 (エタノール; 76.9 ~ 81.4ml) とヒビスコール 100ml 中 (グルコン酸クロールヘキシジン 0.2g、アジピン酸ジイソブチル 0.25g、アラントイン 0.05g、ポリオキシエチレンヤシ油脂肪酸グリセリル 0.1 g、エタノール 83ml) を用いた。

2.3 形態学的観察

透過型電子顕微鏡による形態観察は既報の方法 [6] より行った。黄色ブドウ球菌、大腸菌を Brain Heart Infusion 培地 (Difco) で 37°C 24 時間培養した後、集菌し、リン酸緩衝生理的食塩水で菌体を洗浄後、各種消毒薬を 30 秒間作用させ直ちに遠心洗浄し、前固定は 2.5% グルタルアルデヒドを用い、四酸化オスmium で後固定した。次いでアルコールで脱水、エボン 812 で包埋した。切片の作成は Porter-Blume microtome (Type NT-1, Ivan Sorval Inc) を用いた。透過型電子顕微鏡 (JEOL, Model 100-B, 日本電子 (株)) で観察した。

2.4 画像処理

撮影データの画像処理は、パソコンに取り込んだ後、花子フォトタッチ（Just System）を用いた。得られた画像をグレー色に変換し、印刷機で最適な濃淡画像を調整した。

2.5 触図作成

調整画像は、プリントアウト後に立体用カプセルペーパー（松本興産（株））に複写した。この複写したカプセルペーパーに動作温度を加えると、黄色ブドウ球菌や大腸菌の形態は膨張し、触覚で感知できるように立体的に隆起した像が得られた。

3. 結果

3.1 消毒薬に対する細菌の電子顕微鏡像

消毒用エチルアルコール処置後の黄色ブドウ球菌では未処置（図 1a）に比べ、細胞壁の損傷と膨潤が見られ細胞質内のタンパク変性が顕著で細胞傷害を与えていた（図 2a）。ヒビスコール処置後では細胞壁の外側に内容物の流出が顕著に見られていた（図 3a）。大腸菌では消毒用エチルアルコール処置後には未処置（図 4a）に比べ、細胞壁の損傷と細胞質の変性が顕著に観察された（図 5a）。ヒビスコール処置後では細胞壁の伸張により、細胞壁の外側に内容物の流出が顕著で、細胞破壊像が容易に観察された（図 6a）。

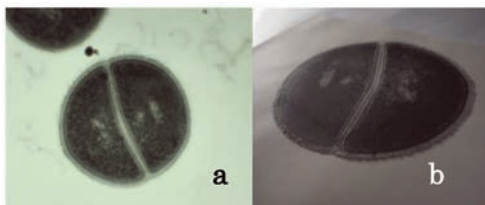


図1 黄色ブドウ球菌の透過型電子顕微鏡像(a)と触図(b)

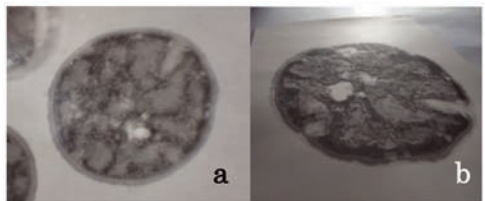


図2 黄色ブドウ球菌の消毒用エチルアルコール処置後の透過型電子顕微鏡像(a)と触図(b)

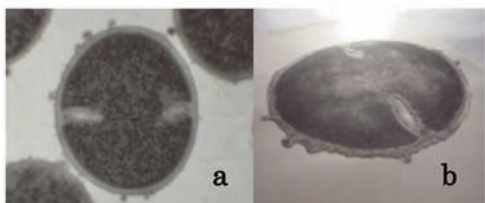


図3 黄色ブドウ球菌のヒビスコール処置後の透過型電子顕微鏡像(a)と触図(b)

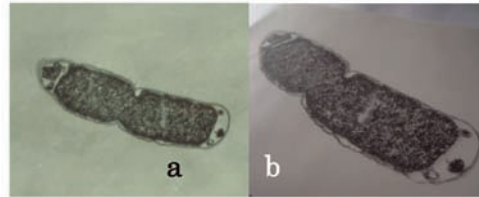


図4 大腸菌の透過型電子顕微鏡像(a)と触図(b)

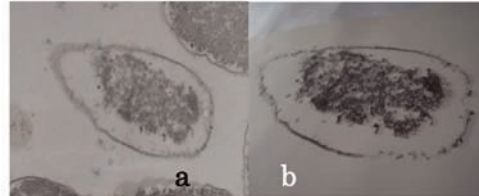


図5 大腸菌の消毒用エチルアルコール処置後の透過型電子顕微鏡像(a)と触図(b)

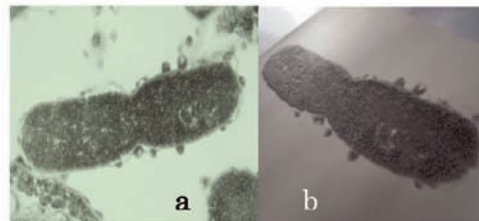


図6 大腸菌のヒビスコール処置後の透過型電子顕微鏡像(a)と触図(b)

3.2 画像処理

黄色ブドウ球菌、大腸菌の超薄切片による電子顕微鏡像をフォトグラフィーで、モノクロ画像へと変換し、最適な濃淡画像を調整した。

3.3 触図での電子顕微鏡像

濃淡を調整した画像を用いて触図を作成し、全盲学生に全視野の形態を観察させた（図 1b～図 6b）。特にヒビスコール処置後の細胞壁より内容物の流出は触図でも容易に観察された。

3.4 全盲学生の識別

触図作成した図形データにより、球状を呈する黄色ブドウ球菌と桿状（棒状）を呈する大腸菌の切片での電子顕微鏡の標本は触察で判別することができた。細菌の形態をグラム染色での触図より細胞質、細胞壁の構造がより理解できた、微生物を説明する上で透過型電子顕微鏡の形態を理解するようになり、グラム陽性球菌と陰性桿菌の代表菌種の細菌細胞の違いまで進展できた。

4. 考察

触察技法により、グラム陽性菌の代表菌種の黄色ブドウ球菌とグラム陰性菌の大腸菌を透過型電子顕微鏡で認識

出来るようになったことは、微生物学教育上で有意義である。光学顕微鏡 [4] や走査型電子顕微鏡 [5] による形態観察では球状や桿状は理解できたが内部構造の相違までは区別ができなかった。内部構造の変化を知ることは、使用薬剤の細菌細胞への作用機序を理解する上で一段の進歩となる。これら一連の微生物学教育は、手指消毒や施術部位の消毒 [1] に関する知識、鍼灸施術者の感染防止のガイドライン [7] の遵守を身につけるためにも重要である。全盲学生が、ミクロの世界を触察で学ぶことは、原因微生物による感染を知る上での指標ともなる。微生物学教育は目に見えない生物を光学顕微鏡で観察ができるようになり、更に電子顕微鏡レベルで細胞形態や内部構造の変化まで知ることから、一段と教育・研究が進化した。全盲であってもミクロの世界を理解することは、将来医療従事者となる上で、資質の向上につながるものと考えられる。

医療の現場ではメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) や多剤耐性大腸菌、多剤耐性緑膿菌が院内感染の最も重要な菌種で、頻繁に分離される微生物である。これらの菌種は適正な消毒薬の使用においては容易に殺菌されるが、抗菌薬には耐性であるが故に院内感染の代表となっている。更には市中感染症の原因としても多剤耐性菌が頻繁に分離されるようになってきた。これら多剤耐性菌による相次ぐ感染事例が社会問題化し、様々な観点からその強化が図られ、手指衛生を中心とした標準予防策の徹底などが各医療施設で行われるようになった。しかしながら、院内感染対策に積極的な医療機関と十分とはいえない医療機関もある [8]。特に病院関係者の手洗い、手指消毒の不備があげられている。病院関係者の中にも微生物学教育を受けていない人は多く存在するからである。最も基本とすることができていないと間違いなく起こるのが感染症である。

鍼灸の現場でも一部の鍼灸師ではあるが、未だ手指消毒をしないで患者に施術する人がいる現状 [9] がある。微生物に対する無知蒙昧の人の存在がある事実も忘れてはならない。適切な感染予防対策が行われている鍼灸治療院が多い中で、これらの例は医療現場で見られる例と類似している。少なくとも鍼灸を学ぶ学生は早い時期に徹底的に微生物を認識し、正しい感染予防対策を習得せねばならない。

今回、超薄切片像での細菌細胞内の微細構造とその変化を触察で認識できるようになったことは、微生物学教育を進める上で有効な手段であった。細菌の電子顕微鏡的形態を触図で観察することは、従来からの発育集落 [3] やグラム染色性 [4] と関連づけることで、一段と微生物の認識が高まり、資質の向上につながるものと考えられる。視覚障害学生に系統立てて微生物学教育を習得させ、将

来医療従事者となるうえで、感染予防のための基礎学力を確実に身につけることは必須条件である。鍼灸の職域が拡大し、病院勤務が定着してきたときに、視覚特別支援学校を含めた鍼灸関連教育機関での微生物学教育の充実がなされていないと、院内感染にも対処できないこととなる。今後は、卒後教育の一貫としても微生物感染症のタイムリーな講習会や教育セミナーを開催し、鍼灸領域での感染予防対策を万全なものとしたい。

本研究は平成 24 年度科学研究費補助金基盤研究 (C) 「全盲学生にフォトグラフィーを応用した触図教材による微生物学教育に関する研究」研究課題番号 22500842 研究代表者一幡良利により実施した。また、一部は文部科学省特別教育経費「視覚に障害をもつ医療系学生のための教育高度化改善事業」の助成を受けた。

参考文献

- [1] 一幡良利, 浅賀久美 他: 消毒用エタノールの常在細菌に対する形態変化と生菌数の変動. 筑波技術短期大学テクレポート. 6:269-272, 1999.
- [2] 高橋昌巳, 一幡良利: 疾病の成り立ちと予防のための実習書. 改訂 2 版 (衛生・公衆衛生・微生物・免疫), 桜雲会出版, 東京, 2010. (拡大版, 点字版)
- [3] 池宗佐知子, 谷津忠志 他: 全盲学生に触図教材を用いた微生物学教育に関する研究. 筑波技術大学テクレポート. 17(2): 30-32, 2010.
- [4] 一幡良利, 谷津忠志: フォトグラフィーを応用した触図教材による細菌形態の識別. 筑波技術大学テクレポート. 18(2): 52-55, 2011.
- [5] 一幡良利, 後藤啓光 他: 電子顕微鏡による細菌形態の触図教材. 筑波技術大学テクレポート. 19(2): 22-25, 2012.
- [6] 一幡良利: ブドウ球菌莢膜の謎にせまる—感染とその防御機構について—. 日本細菌学雑誌. 51(2): 601-611, 1996.
- [7] 尾崎昭弘, 坂本歩: 鍼灸医療安全ガイドライン. 医菌薬出版, 東京, 2007.
- [8] 平松和史, 門田淳一: 薬剤耐性菌感染症に対する予防・治療戦略. 日本化学療法学会雑誌 59(2): 151-157, 2011.
- [9] 新原寿志, 角谷英治 他: 鍼灸臨床における感染防止対策の現状. 全日本鍼灸学会誌. 60(4):716-727, 2010.

Tactile Graphics of the Effects of Disinfectant on Bacterial Morphology

ICHIMAN Yoshitoshi, WATANABE Ryohei, IKEMUNE Sachiko

Course of Acupuncture and Moxibustion, Department of Health, Faculty of Health Sciences,
Tsukuba University of Technology

Abstract: Visually impaired students were able to study microbiology remarkably well with the aid of tactile graphics that provided an understanding of microbial morphology and gram staining. Furthermore, the students could identify the use of a scanning electron microscope in a study of coagulase-negative staphylococcal form by the use of tactile graphics. A transmission electron microscope was used to create these tactile graphics to display the effects of disinfectant on bacterial morphology. The use of tactile graphics has a strong implication for microbiology education for visually impaired students who hope to become medical professionals.

Keywords: Visually impaired students, Microbiology education, Tactile graphics, Disinfectant, Transmission electron microscope