

電子顕微鏡による細菌形態の触図教材

筑波技術大学 保健科学部 保健学科鍼灸学専攻¹⁾、産業技術学部 産業情報学科²⁾

一幡良利¹⁾ 後藤啓光²⁾ 谷 貴幸²⁾ 荒木 勉²⁾

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、コアグラールゼ陰性ブドウ球菌のグラム染色後の形態を容易に識別するようになった。今回は走査型電子顕微鏡によるコアグラールゼ陰性ブドウ球菌の形態を触図により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有意義な教育方法であることがわかった。

キーワード: 全盲学生, 微生物学教育, 触図, コアグラールゼ陰性ブドウ球菌, 走査型電子顕微鏡

1. はじめに

医療系大学学生における微生物学教育はカリキュラムに沿って講義と実習によって習得するようになっている。医療分野も専攻によっては、扱う微生物の種類が異なるため、特徴づけた教育がなされている。特に医学科、看護学科、臨床検査学科の微生物学教育は人の感染症に関する微生物の種類、検査方法、臨床症状、治療法に基づいてプログラムされている。他のコマディカルでは感染症例に遭遇することも少ないので、微生物学の講義を衛生学・公衆衛生学の中で学習させている現況である。鍼灸関連教育機関でもカリキュラムに標榜しているところは数校あるのみで、微生物学教育の教材 [1][2] をみても、著者らのものが唯一である。それを裏付けるように、鍼灸関連の最近の感染予防対策に対するアンケート調査 [3] では、マニュアル [4] はあるものの、十分に活用されているとは言い難い。マニュアルを制定しても微生物学教育がしっかりしていないと形だけのもので、教育実践法に課題があるとも指摘している。なぜなら、鍼灸領域では微生物学教育・研究を行っている機関も極めて少ないからである。

鍼灸では、感染症患者の直接の治療は行わないので、重要視されていないのかも知れない。しかし感染予防対策は万全でなければならない。特に、がん患者などの免疫機能の著しく低下した患者を扱う機会は増大している。また、介護施設での高齢者に対する鍼灸・マッサージのニーズは増加傾向にある。最近では市中感染といわれる通常の社会生活を送っている健康な人（高齢者や基礎疾患を有する人）に発生する感染症も話題 [5] となっている。この感染は大学、学校、託児所、感染者のいる家庭内で容易に起こる。原因菌としてあげられるのは、特に多剤耐性ブ

ドウ球菌である黄色ブドウ球菌やコアグラールゼ陰性ブドウ球菌がある。環境要因に起因する感染症は鍼灸治療院での交差伝達感染の危険性は潜んでいる。残念ながら、卒業教育を見ても院内感染や市中感染対策のマニュアルに沿った講習ないしは実践教育が常時なされているとはいえない。

感染症の背景は時代と共に著しく変化するので、学生教育をブラッシュアップせねば、将来の感染予防対策は万全とはいえない。本学では微生物学実習においても学生自身の常在微生物叢を検索させ、興味を引き出させている。最も基本的であることからはじめ、発育した微生物集落を観察し、細菌の染色手法を習得させている。弱視学生は拡大レンズ、拡大モニター、白黒反転図などを用いることで、発育集落や染色標本を肉眼的に観察することができている。全盲学生はフォトグラフィーを応用した触図教材で培地に発育した集落 [6] や染色後の標本を光学顕微鏡での観察 [7] まで行っている。今回、全盲学生に皮膚の常在細菌叢のなかで最も頻繁に分離されるコアグラールゼ陰性ブドウ球菌をモデルとして、走査型電子顕微鏡による形態を触図で識別させる目的で本研究を行った。

2. 材料と方法

2.1 培養方法

手型用培地（new—パームチェックブドウ球菌寒天培地（日研生物医学研究所（株））に手掌表面を10秒間軽く押圧した。手型用培地の培養は37℃の孵卵器内で48時間培養し、発育した集落を観察した。発育集落はBHI（Brain Heart Infusion）寒天培地（Difco, USA）に分離培養後、Staphaurex（Remal Inc. USA）でコアグラールゼの産生能を鑑別した。

2.2 走査型電子顕微鏡用標本作製

電子顕微鏡標本は 15ml プラスチックチューブ (Falcon, Becton Dickinson, USA) に 10ml の BHI 液体培地を調整し、生菌接種した。担体としてステンレス鍼を培地の中へ入れ、生菌接種 5 時間後に担体を取り出し、ホルマリン固定した。固定標本を 3D リアルサーフェスビュー走査型電子顕微鏡 (VE-9800, (株) キーエンス) で観察した。

2.3 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。

2.4 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、コアグララーゼ陰性ブドウ球菌の形態は膨張し、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 コアグララーゼ陰性ブドウ球菌の電子顕微鏡像

正円形、辺縁スムーズで光沢のある塊がブドウ状の形状で個々の球形が連なって房状の型を呈していた (図1)。本菌株はブドウ球菌培地に発育したが、マンニト非分解で、コアグララーゼは非産生であることを確認した。

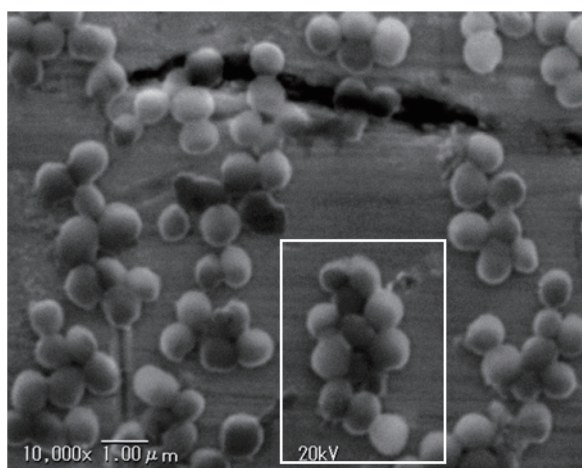


図1 コアグララーゼ陰性ブドウ球菌の電子顕微鏡像 (×10,000)

3.2 画像処理

コアグララーゼ陰性ブドウ球菌の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 (図2)。

3.3 触図でのグラム染色像

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ブドウ状の形成標本を観察させた (図3)。このうち特徴的なブドウ状形態を示した個所 (枠で記載) を選択し、拡大触図も作成した (図4)。

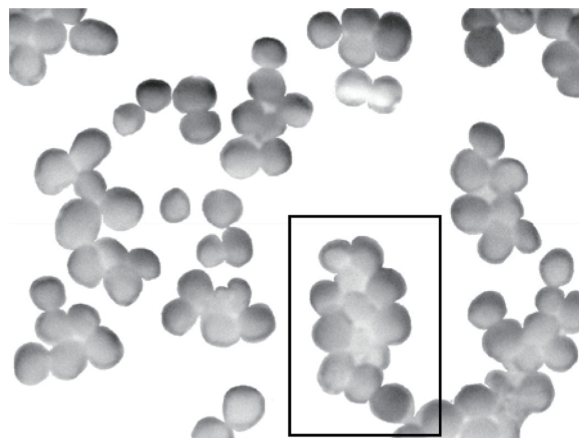


図2 画像処理後のコアグララーゼ陰性ブドウ球菌

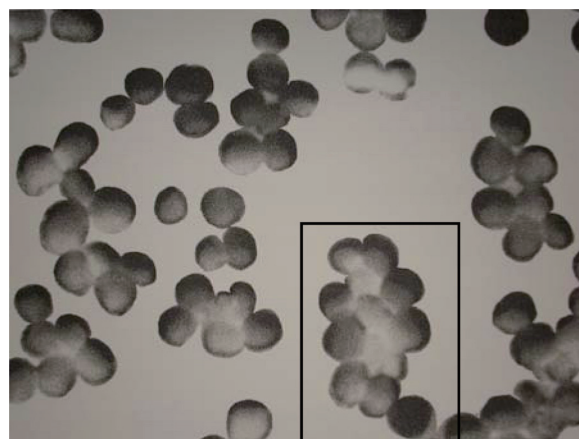


図3 コアグララーゼ陰性ブドウ球菌の電子顕微鏡像の触図



図4 コアグララーゼ陰性ブドウ球菌の拡大触図

3.4 全盲学生の識別

触図作成した図形データにより、ブドウ状の電子顕微鏡的標本は触察で判別することができた。常時触図を教材としている学生は微生物を知らなくてもブドウ状の配列を容易に認識した。触図教材の使用経験が浅い学生ではブドウ状集落が何を指すかの識別が困難であった。しかし、微生物を説明する内に電子顕微鏡的形態と細菌との関係を理解するようになり、コアグラゼ陰性ブドウ球菌と皮膚常在微生物叢との関連性に発展させることができた。

4. 考察

手掌および皮膚の常在微生物叢のなかで最も多く分離されるコアグラゼ陰性ブドウ球菌の発育形態を電子顕微鏡レベルで認識出来るようになったことは、本菌種によっておこる日和見感染症 [8] を知る上で有意義である。光学顕微鏡や電子顕微鏡による形態観察ではコアグラゼ陰性ブドウ球菌と黄色ブドウ球菌の区別はできないが、同一の形態を有する。従って、形態観察は微生物を知る上で、最も基礎となる微生物学教育法の一つである。鍼灸施術者の感染防止のガイドライン [4] の遵守、手指消毒や施術部位の消毒 [9] に関する知識を身につけるためにも意義があると考えられる。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まで知ることから、一段と教育・研究が進展した。全盲であってもミクロの世界を知ることは、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。

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) やコアグラゼ陰性ブドウ球菌のなかのメチシリン耐性表皮ブドウ球菌 (MRSE) は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。MRSA や MRSE は消毒薬、加熱処理においては容易に殺菌されるが、抗菌薬には多剤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頻繁に分離されるようになってきた。鍼灸界でのアンケート結果 [3] では現役開業鍼灸師でも未だ手指消毒をしないで患者に施術する人がいる現状である。一部の鍼灸師ではあるが、感染予防の観点からは最も脅威である。しかしながら鍼灸治療院での適切な感染予防対策が行われていれば感染の機会は少ない。2010年、9月に帝京大学付属病院で起きたアシネトバクターの院内感染 [10] の事後調査でも病院関係者の手洗い、手指消毒の不備があげられていた。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の世界である。鍼灸を学ぶ学生は早い時期に微生物を認識し、的確な感染予防策を習得せねばならない。今回、最も基本とするコアグラゼ陰性ブドウ球菌

の多彩なクラスター形成の形態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で、従来からの発育集落形態、グラム染色像とを関連づけることで、一段と微生物の認識が高まった。多彩な形態を有する球菌類を理解することが第一歩となる。更に、超薄切片像での細胞内の微細構造を識別させたい。

視覚障害学生に微生物学教育を充実させ、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重要である。更には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も必要となる。今後は、卒後教育の一貫として鍼灸学会、鍼灸師会等での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、鍼灸界の感染予防対策を万全なものとしたい。

本研究は平成 23 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。

参考文献

- [1] 高橋昌巳, 一幡良利: 疾病の成り立ちと予防I. 第4版, 桜雲会出版, 東京, 2011. (拡大版, 点字版)
- [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] 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.
- [4] 尾崎昭弘, 坂本歩: 鍼灸医療安全ガイドライン. 医歯薬出版, 東京, 2007.
- [5] 中村 造, 山口哲央他: 市中型 MRSA 感染症. 感染症学雑誌 84(5): 15-33, 2010.
- [6] 池宗佐知子, 谷津忠志, 一幡良利: 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.
- [7] 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.
- [8] 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.
- [9] 一幡良利: 感染症研究の最前線—上手に手洗いが出来ていますか—. 点字ジャーナル. 39(1): 17-19, 2008.
- [10] 平潟洋一: アシネトバクター感染症. 感染症学雑誌 85(4):340-346,2011

Tactile Graphics of Bacterial Morphology Obtained Using a Scanning Electron Microscope

ICHIMAN Yoshitoshi¹⁾, GOTOH Hiromitsu²⁾, TANI Takayuki²⁾, ARAKI Tsutomu²⁾

¹⁾Course of Acupuncture and Moxibustion, Department of Health,
Faculty of Health Sciences, Tsukuba University of Technology

²⁾Department of Industrial Information, Faculty of Industrial Technology, Tsukuba University of Technology

Abstract:Visually impaired students were able to study microbiology remarkably well with the aid of tactile graphics that provide an understanding of microbial morphology. Furthermore, the students could identify Gram staining of coagulase-negative staphylococci by using the tactile graphics. These tactile graphics of the coagulase-negative staphylococcal form were obtained using a scanning electron microscope. Microbiology education has an important implication for visually impaired students who wish to become medical professionals.

Keywords: Visually impaired student, Microbiology education, Tactile graphics, Coagulase-negative staphylococci, Scanning electron microscope