

空中浮遊菌の測定法

Technique for measuring of airborne fungi

今井 恵子 田中 辰明

Keiko IMAI and Tatsuaki TANAKA

(お茶の水女子大学大学院 ライフサイエンス)

1. はじめに

近年、アレルギー性疾患が大きな問題となっている。アレルゲンの一つとして真菌が注目されて以来、空中浮遊菌が常に問題視されはじめた。以来、多くの測定法が開発されている。捕集するものが微生物のため、測定結果に誤差が生じやすく、計測器が求められるものは大きい。本報は現在までに考案された計測器の長所短所を把握することを目的とした。

2. 測定法の種類

空中浮遊菌を測定する際の大まかな流れは、測定する場所の空気中の浮遊菌を捕集、生育する環境(培地)に付着させ、培養し、菌種の同定を行うことである。空中浮遊菌の捕集にはさまざまな方法が提案されているが、浮遊菌の形状が多様であるため、大小さまざまな真菌をすべて捕らえるということは困難である。その問題を克服するため、計測器は数多く開発され、進歩してきた。しかしながら現在、捕集効率、簡便性、迅速性など全てにおいて抜き出で優れているような測定法は確立されていない。

以下に代表的な測定法について示す(Table1)。

Table1 空中浮遊菌の代表的な測定法

| 測定原理 | 測定法 | 測定器代表例 | 培地 |
|--------|------------|---------------|---------------------|
| 衝突 | 遠心衝突法 | RCS | アガーストリップ |
| | | RCS Plus | アガーストリップ |
| | | RCS High-flow | アガーストリップ |
| | スリット法 | M/G | 寒天培地 |
| | | FT式 | 寒天培地 |
| | ピンホール法 | ピンホールサンブラ | 寒天培地 |
| 多段多孔板法 | アンダーセンサンブラ | 寒天培地 | |
| 多孔板法 | MAS-100 | 寒天培地 | |
| 衝突洗浄 | インピジャ法 | インピジャ | メンブランフィルタ |
| | | | 液体培地、ポンプ 流量計、消泡剤 |
| ろ過 | メンブランフィルタ法 | メンブランフィルタ | 55プラスモニタ |
| | | | アンブル培地 |
| | ゼラチンフィルタ法 | ゼラチンフィルタ | ゼラチンフィルタ |
| | | | ポンプ |
| 落下 | 落下法 | 平板寒天培地 | 寒天培地 |

2-1 衝突法

培地表面に空気を高速で衝突させ、菌細胞の持つ慣性力によって培地上に空中浮遊菌を捕集する。吸引ノズルと培地面の距離が捕集効率に大きく関わり、距離が開きすぎると効率が落ちるという欠点があるが、簡便性、迅速性が優れており、最もよく使用される方法である。

1) 遠心衝突法

回転羽根が高速に回転することによって強力な遠心吸

引力が発生し、これにより空気を吸引し専用の培地に空中浮遊菌を捕集する方法である。これを応用した計測器がRCS サンプラー (BiotestCo.Ltd)(Photo1)、RCS High-flow(Photo2)である。2機種は測定原理は同じであるが、吸引流量が40L/min、100L/minと異なる。サンプリングは回転羽根と円筒部の間にある隙間に専用培地であるアガーストリップをセットして行う。アガーストリップは、縦215×横25mmの樹脂製のフィルムに添加された寒天培地であり、種類はSDX、TC(一般細菌用)、YM(真菌用)、S(ブドウ球菌用)、C(腸内細菌用)など用途別に作成されている。

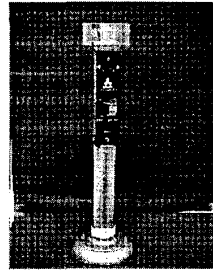


Photo1 RCS サンプラー



Photo2 RCS High flow

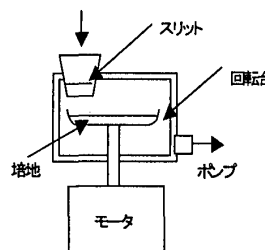
サンプリング時間は30秒、1分、2分、4分、8分の5段階であり、アガーストリップに生える菌数を制御するため、測定する室内の汚染状況から半断し選択するようになっている。また評価をする際以下の式で算出し、本報3の評価基準などと照らし合わせて比較を行うのが一般的である。

$$1L \text{ 中の 菌 数 } = \frac{\text{培地上のコロニー数}}{\text{サンプリング時間 (min)} \times 40}$$

$$1m^3 \text{ 中の 菌 数 } = \frac{\text{培地上のコロニー数} \times 25}{\text{サンプリング時間 (min)}}$$

$$1ft^3 \text{ 中の 菌 数 } = \frac{\text{培地上のコロニー数} \times 0.708}{\text{サンプリング時間 (min)}}$$

2) スリット法



空気吸引口がスリット状になっておりスリットを通して空気を吸引し、平板培地上に衝突させ空中浮遊菌を捕集し、培養後、生菌数の測定を行う方法である (Fig.1)。

Fig.1 スリットサンプラーの構成図

3) ピンホール法

スリットの代わりにピンホール5個が、空気吸引口となり、培地を機器本体の回転台に乗せ、培地を回転させながら、平板上に空中浮遊菌を吹き付け捕集する方法である。スリット法よりも精度が高く改良された方法である。

4) 多段多孔法

アンダーセンサンプラー法とも呼ばれ、600個の子孔がある多孔板と平板培地の組み合わせが6段あり、孔の大きさは下段に行くほど小さくなっている。各孔によって形成された噴流を平板培地に衝突させ空中浮遊菌を捕集する。この方法は再現性が高く、下のプレートにいくほど空気の流れは大きくなりそれに応じて捕集される粒子径は小さくなるので菌塊と菌の分離が可能となる。

5) 多孔板法 (SAS法)

多段多孔法を原理とした方法であり、SAS(Surface air sampler)法とも呼ばれる。その一つにMAS-100(MERCK Co.Ltd)がある(Photo3)。EUの規格基準に適合している。使用方法はペトリ皿寒天培地を流入経路である穴のあいた板の下に置き、培地に空気を当てて空中浮遊菌を培地に捕集させる。平板培地のため、菌種の同定が可能となる。機器の音も小さく(1m 隔離距離で40dB) 居住空間での測定に最適と思われる。

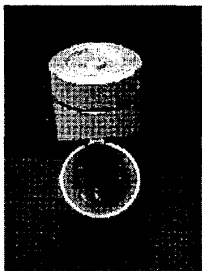


Photo3 MAS-100

2.2 衝突洗浄法

インピジャを用いて液体培地に空気を衝突させる方法であるが最近ではほとんど行われていない。

2.3 ろ過法

ポンプなどによってフィルターを通して空気を吸引する方法である。フィルターに捕集された空中浮遊菌はフィルターごと培地にのせ、培養、もしくはろ過装置に入れて培養し、生菌数を測定する。メンブランフィルターを用いる方法とゼラチンフィルターを用いる方法とがある。メンブランフィルターについてはフィルターに捕集された空中浮遊菌が菌塊により死滅してしまうという報告もあり、論議が交わされるところである。どちらのフィルターを使用してもろ過は捕集効率が高く、操作も容易であり、持ち運びも便利であることから国内での製品化もなされている。

2.4 落下法

最も原始的な方法であり、自然落下する空中浮遊菌を一定時間開放した平板培地上に付着させ培養、生菌数を測定する方法である。この方法には、①空気量が既知でないため、得られた生菌数を空気量に関連づけることができない。②落下速度と粒径の2乗に比例するといわれており、清浄度の高い空間での測定や全ての菌種を捕集するためには長い開放時間が必要である。③長い開放時間に設定するとすでに付着した菌種が培養するまでに乾燥し死滅する場合は考えられる。④測定場所での風向、風速もしくは人の出入りなど影響が大きくでしてしまうなどさまざまな問題を抱えているため、前述のエアースンプラーを用いて測定することが多く見受けられるようになった。Table2に落下法とRCS サンプラーの捕集効率の比較を示す。落下法は空気量が既知ではないが、菌数のみを比較した場合サンプラーの方が、捕集効率が高いといえる。また、測定場所は生活空間が多いので短時間で測定するほうが好まれる。しかし、落下法は現在でも同一測定点での経時的な測定に用いられている。

Table2 某工場における落下法とRCS サンプラーの捕集効率の比較

| 測定箇所 | 落下法 | RCS サンプラー | 測定箇所 | 落下法 | RCS サンプラー |
|------|-----|-----------|------|------|-----------|
| 1 | 3 | 54 | 11 | 0 | 27 |
| 2 | 4 | 4 | 12 | 3 | 52 |
| 3 | 10 | 60 | 13 | 1 | 20 |
| 4 | 28 | 139 | 14 | 4 | 94 |
| 5 | 8 | 125 | 15 | 9 | 291 |
| 6 | 6 | 46 | 16 | 5 | 38 |
| 7 | 10 | 59 | 17 | 12 | 249 |
| 8 | 2 | 52 | 18 | 15 | 158 |
| 9 | 10 | 104 | 平均値 | 7.89 | 92.94 |
| 10 | 12 | 100 | | | |

注落下法直径90mm、ペトリ皿5分開放 RCS サンプラー: 吸気量40L
 フジテクノシステム編「環境衛生管理大系 有害微生物管理技術第II巻 製造流通業におけるエンジニアリングとHACCP」P417より

3. 真菌量の評価

空中浮遊菌の中でも真菌量の判定は難しく、規格も統一されていない。日本国内の真菌量評価は東京都学校環境衛生基準(1995)で落下真菌が10CFU/5min・plate以下としている。

また旅館業における衛生等管理要領(1984.8.28.厚生省生活衛生局)では真菌・酵母の生菌数を10CFU/10min・plate以下としている。

欧州で一般的に使用されているのがイタリアのイプサラのNO.12Comimission of the European Communities Indoor Pollution Unit.で作成された判断基準である(Table3)。

Table3 真菌量の評価基準

| | |
|----------------------------|---------|
| <25 (CFU/m ³) | 非常に少ない |
| <100 (CFU/m ³) | 少ない |
| <500 (CFU/m ³) | どちらでもない |
| <2000(CFU/m ³) | 多い |
| >2000(CFU/m ³) | 非常に多い |

CFU:Colony Forming Unit

4. まとめ

空中浮遊菌は人体への影響が大きく、常にヒトと関わっているものであるため、空中浮遊菌を検討することは非常に重要であり、より理解を深めていかなければならない。しかしながら、測定法や評価基準が統一されていないのが現状であり、測定に大切な要素である正確性、再現性、迅速性がより高いものになるように今後機器の改良が待たれる。

【参考文献】

- 1)水ト慶子、田中辰男、相原真紀、木村千暁、李憲俊「エアースンプラーの性能比較」第17回空気清浄コンタミネーションコントロール研究大会予稿集1999.4
- 2)日本防菌防霉学会編「技術出版「防菌防霉」ハンドブック」1986.5
- 3)藤木吉保「住宅内でのカビの動態調査に関する研究」お茶の水女子大学平成11年卒業論文
- 4)フジテクノシステム編「環境衛生管理大系 有害微生物管理技術第II巻 製造流通業におけるエンジニアリングとHACCP」2000.5.23.