空中浮遊菌測定器の生物粒子捕集性能

山 崎 省 二

国立保健医療科学院 客員研究員

〒351-0197 埼玉県和光市南2-3-6

Collection efficiency of biological particles on airborne bacteria samplers

Shoji YAMAZAKI, A guest researcher

National Institute of Public Health.

2-3-6 Minami, Wako-shi, Saitama 351-0197, Japan

要 旨

生物粒子を用いて空中浮遊菌測定器の捕集性能を調べた報告は少ない。

著者らは1970年代に購入可能であった空中浮遊菌測定器5種の生物粒子捕集性能を菌噴霧実験チャンバーを用いて調べ、衝突型のスリットサンプラー(Casella)が優れた捕集性能を持つことを知った。しかし、この成績は定性的であった。定量的な成績を得るため、空中浮遊菌測定器の生物粒子捕集性能試験方法を開発した。この捕集性能試験方法を用いて衝突型空中浮遊菌測定器6種類の生物粒子捕集性能を調べた結果、器種により捕集性能に差が認められた。また、携帯型は定置型測定器に比較し明らかに捕集性能が低かった。

その後、仲田らは生物粒子の捕集性能を重視した携帯型測定器を開発し(1999年)、その生物粒子捕集性能を前述の試験方法を用いて定量的に調べ、携帯型においても定置型同様の高い生物粒子捕集性能を有することを報告した。ここではこれらの成績を紹介する。

Abstract

There were few reports on the collection efficiency of the airborne bacteria sampler using biological particles in a laboratory.

We studied collection efficiency on the 5 kinds of samplers for biological particles using the test chamber atomized microorganisms and proved the slit sampler (casella) of the impaction type show surpassing collection efficiency in 1970. However, as the study was qualitative, we have developed the skillful method and designed the test equipment for collection efficiency using biological particles of the samplers and performed a quantitative experiment. (1993) As the results of these experiments, the collection efficiency of samplers indicates the significant difference and the collection efficiency of the portable type samplers indicates lower than that of the fixed type samplers.

Nakata et al. developed the portable sampler which has as high collection performance as fixed type samplers examined by the above quantitative method. (1999)

Here, we introduce these results.

Key words: 空中浮遊菌(Airborne bacteria), 空中浮遊菌測定器(Airborne bacteria samplers), 捕集性能(Collection efficiency), 生物粒子(Biological particles), 枯草菌芽胞(Spore of *Bacillus subtilis*)

1. はじめに

パスツールは1860年に室内の空气中に微生物が存在することを肉汁ブイヨンを用いて初めて証明し、コッホは1881年にジャガイモを主成分とする固形培地を用い、空気から微生物を回収した。その後、多くの人々が空中浮遊菌測定器を開発した¹⁾が生物粒子を用いて捕集性能を示したものは少ない。

1959年に米国のPublic Health Monograph²⁾で空中浮遊菌測定器に関する詳細な報告がなされ、1963年にカリフォルニア大学バークレイ校で空中浮遊菌測定器に関する国際会議が開かれ、空中浮遊菌測定器は現在(1963年)のところArtであるとした³⁾。1967年には宇宙開発に伴う問題として、宇宙に微生物を持ち込まない、宇宙から微生物を地球に持ち込まないことを目的に空中微生物の捕集・分離などが検討された^{4,5)}。同年英国のインペリアルカレッジで空中微

受付：2006年9月25日(Received：25 September 2006)

受理：2007年3月19日(Accepted：19 March 2007)

生物に関するシンポジウムが開かれ、検討内容が著書⁶⁾に記された。また、1969年に空中微生物の一般性状に加え、空中微生物の捕集・分離などに関する詳細な内容の著書がディミイック⁷⁾らにより出された。

国際的には世界標準機構(ISO)でバイオコンタミネーションの国際規格化が1994年から討議され、この中で空中浮遊菌測定器の生物粒子捕集性能の検定も検討されており、現在JIS化が検討されている。

日本では生物粒子を用いて各種空中浮遊菌測定器の捕集性能比較が1980年に報告された⁸⁾。また、工業技術院委託調査研究で空中浮遊菌測定器の生物粒子捕集性能試験方法を検討し、1991、1993年に報告され^{9,10)}、1995年にJIS化された¹¹⁾。ここでは山崎の1980年の報告⁸⁾とJIS化された捕集性能試験方法を用いて行った各種空中浮遊菌測定器の生物粒子捕集性能結果^{9,10)}について述べる。

2. 空中浮遊菌測定器の生物粒子捕集性能

2.1 菌噴霧実験チャンバーを用いた空中浮遊菌測定器の生物粒子捕集性能比較

山崎⁸⁾らは1970年代当時、購入可能であった空中浮遊菌測定器のうち、落下法(9cmφシャーレ)、スリットサンプラー(Casella)、ガラスインピンジャー(AGIミリポア)、サーマルプレシピティタ(水冷式, Am. In. Co.)の生物粒子捕集性能を菌噴霧実験用チャンバーを用いて比較した。結果を表1に示す。乳児由来の非病原性大腸菌(*Escherichia coli*)をアトマイザ(ネブライザ)でチャンバー内に吹き込み、空

気1ℓにつき270個(計算値)を浮遊させると、落下法では5分間の暴露で1個のコロニーが(37℃24時間培養)、スリットサンプラーは2分間62ℓのサンプリングで809個、ガラスインピンジャーでは5分間71ℓのサンプリングで119個が認められ、サーマルプレシピティタでは大腸菌のコロニーが認められなく、スリットサンプラーの捕集性能が優れていた。

スリットサンプラー(Casella)、ガラスインピンジャー(AGIミリポア)、メンブレンフィルタ標準法(ミリポア)の生物粒子捕集性能を比較した結果を表2に示す。非病原性大腸菌を空気1ℓにつき240個(計算値)浮遊させるとスリットサンプラーは2分間62ℓのサンプリングで725個のコロニーが、全ガラスインピンジャーでは5分間で62.5ℓのサンプリングで97個、メンブレンフィルタ標準法では5分間62.5ℓのサンプリングで39個が認められ、スリットサンプラーでの捕集効率が高かった。

これらの結果から衝突型空中浮遊菌測定器スリットサンプラー(Casella)は優れた生物粒子捕集性能をもつ測定器であることが知られた。しかしこのスリットサンプラーは高価であり、大きく重く、移動が困難である、音が大きい、などの欠点があり実用的でないため、著者らはスリットサンプラーの理論をもとに欠点を改良した空中浮遊菌測定器を開発(ピンホールサンブラ)した。その生物粒子捕集性能を菌噴霧実験チャンバーに霊菌(*Serratia marcescens*)をアトマイザで噴霧し、スリットサンプラーと比較検討した結果を表3に示す。環境由来の霊菌を空気1ℓにつき78個(計算値)を浮遊させるとピンホールサン

表1 空中浮遊菌測定器の生物粒子捕集性能-1

大腸菌曝露濃度 個/空気1ℓ	測定器*	落下法	S.S.	Imp.	T.P.
	実験No.	大腸菌コロニー数			
270	1	1, 1, 1	849	109	0
	2	1, 1, 1	769	129	0
27	1	2, 0, 0	59	40	0
	2	0, 0, 0	60	41	0
2.7	1	0, 0, 0	4	4	0
	2	0, 0, 0	5	5	0

* 測定器

落下法: Koch法 9cmφシャーレ各3枚5分曝露

S.S.: Slit Sampler(Casella)吸気量31ℓ/min, 2分

Imp.: Glass Impinger(ミリポア)吸気量12.5ℓ/min, 5分

T.P.: Thermopositor(Am. In. Co.)吸気量6ℓ/min, 10分

表2 空中浮遊菌測定器の生物粒子捕集性能－2

大腸菌曝露濃度 個／空気1ℓ	測定器*	S.S.	Imp.	M.F.
	実験No.	大腸菌コロニー数		
240	1	743	93	41
	2	706	106	37
24	1	72	28	10
	2	68	36	14

* 測定器

S.S. : Slit Sampler (Casella) 吸気量31ℓ/min, 2分

Imp. : Glass Impinger (ミリポア) 吸気量12.5ℓ/min, 5分

M.F. : Membran Filter (ミリポア) 吸気量12.5ℓ/min, 5分

表3 空中浮遊菌測定器の生物粒子捕集性能－3

霊菌曝露濃度 個／空気1ℓ	測定器*	
	P.S.	S.S.
	霊菌コロニー数	
78	504.5±47.8	540.0±48.0
空気1ℓ当りの捕集菌数	9.52	8.71
7.4	20.0±2.7	17.2±2.3
空気1ℓ当りの捕集菌数	0.38	0.28

* 測定器

P.S. : ピンホールサンプラ (三基) 吸気量26.5ℓ/min, 2分

S.S. : スリットサンプラ (Casella) 吸気量31ℓ/min, 2分

プラは2分間53ℓのサンプリングで505個のコロニーが、スリットサンプラでは2分間64ℓのサンプリングで540個が認められ、捕集空気1ℓ当たりの捕集菌数はピンホールサンプラ9.5個、スリットサンプラ8.7個であり、両者の捕集性能は同程度であった。

しかし、これらの成績は大腸菌や霊菌の菌噴霧実験用チャンバー内での消長が不明であるため、定量的ではなく、定性的である。

2.2 JISの生物粒子捕集性能試験方法による空中浮遊菌測定器の生物粒子捕集性能比較

2.2.1 衝突型空中浮遊菌測定器の生物粒子捕集性能比較

1995年にJIS化¹⁾された捕集性能試験方法を用いて、山崎ら¹⁰⁾は現在広く利用されている衝突型空中浮遊菌測定器の菌捕集性能試験を行なった。測定器は入手が容易で、比較的広く利用されている6種類を選び、捕集性能を調べるための生物粒子(菌)は、乾燥などの物理的条件に強く、アトマイザ(ネブラ

イザ)などの発生器を用いても死滅せず安定で、単体で発生できる、ヒトに危険がない、汚染菌と区別が容易にできるなどの理由から、枯草菌芽胞(*Bacillus subtilis globigii* ATCC9372, 中心粒子径0.7μm)を用いた。試験装置を図1に示す。

測定した衝突型空中浮遊菌測定器の仕様と測定結果を表4、表5に示す。衝突型空中浮遊菌測定器A, B, Cはほぼ100%の捕集性能を示し、Dの捕集性能は約50%と低く、E, Fは2%あるいは1%以下のきわめて低い捕集性能を示した。この成績は非生物粒子のDOPエアロゾルを用いた実験成績とよく一致した。(図2, 3)

この成績から衝突型空中浮遊菌測定器の捕集性能は器種によりばらつきがあることがわかった。また、試験に用いた衝突型空中浮遊菌測定器A, B, C, Dは、動力源に100VのAC電源を用いた定置型でE, Fはバッテリーを用いたDC電源の携帯型であったが、携帯型の捕集性能は明らかに低かった。

これら電池使用の携帯型測定器E, Fが示した極め

図1 空中浮遊菌測定器の捕集性能試験装置

表4 衝突型空中浮遊細菌測定器の仕様と細菌(枯草菌芽胞)捕集性能

測定機種	ポンプ	吸引流量 (L/分)	シャーレ径 (cm)	本体サイズ (mm)	質量 (kg)	細菌捕集性能 (%)
A	外付	28.3	9	108×203	2.5	約100
B	外付	27~30	9	150×150×185	3.0	約100
C	内臓	28.3	15	254×305×305	7.4	約100
D	外付	30	9	250×250×305	7.5	約 50
E	内臓	90	5.5	105×335	2.1	2以下
F	内臓	40	2×18.5	70×335	1.1	1以下

表5 衝突型空中浮遊菌測定器の細菌捕集性能

測定器種	1ft ³ あたりの捕集細菌コロニー数と95%信頼区間								
	A	1.66	1.08-2.58	29.9	25.8-33.9	100	93-106	—	—
測定器種	B	1.92	1.52-2.43	28.1	25.4-30.9	85.2	80.7-89.7	235	218-252
	C	1.75	1.15-2.68	22.2	19.7-24.7	88.8	82.6-94.9	—	—
	D	0.55	0.275-1.13	12.0	9.76-14.7	50.3	45.2-55.4	—	—
	E	0	0.02-3.69	—	—	0.27	0.13-0.59	0.14	0.075-0.27
	F	—	—	—	—	0	0.02-3.69	0.28	0.15-0.56
噴霧菌液濃度 (CFU/ml)		3×10 ⁴		5×10 ⁵		1.5×10 ⁶		1×10 ⁷	
浮遊粒子数(細菌) 濃度(個/ft ³)*		1.75		24.4		86.1		—	

* パーティクルカウンターで計測した粒子数

図2 非生物粒子を用いたB測定器の捕集性能

図3 非生物粒子を用いたE測定器の捕集性能

て低い捕集性能は、生物粒子の安定性などの問題から比較的小さな粒子径(0.7 μ m中心径)をもつ枯草菌芽胞を生物粒子として用いた影響も考えられた。しかし、AC電源の定置型測定器A, B, Cはほぼ100%の捕集性能を示しており、生物粒子の捕集性能を重

視した携帯型測定器の開発が待たれた。

2.2.2 携帯型空中浮遊菌測定器の生物粒子捕集性能

実際に市場で普及し、多く使用されている空中浮遊菌測定器は携帯型であり、定置型は持ち運びに不便さがあり、また、測定場所によってはAC電源のとれない場合もあり、捕集性能が高いとはいえ定置型の使いにくい点は否めない。仲田ら¹²⁾は、携帯型で高い捕集性能を有する空中浮遊菌測定器の開発に取り組み、開発した測定器の生物粒子捕集性能を調べ報告している。JISの菌捕集性能試験方法を用い、生物粒子として枯草菌芽胞と、0.8 μ mの中心径をもつルテウス球菌(*Micrococcus luteus*)を用い、定置型空中浮遊菌測定器のピンホールサンプラと捕集性能を比較している。新しく開発された多孔板法による携帯型測定器Aのほか、1997年にドイツで開発され市販されている携帯型測定器Bおよび携帯型測定器C, D(前述のE, F)も併せて調べている。

生物粒子に枯草菌芽胞を用いると、市販の携帯型測定器B, C, Dはいずれもきわめて低い捕集性能を示したが、新たに開発された携帯型測定器Aは定置型測定器ピンホールサンプラと同一の高い捕集性能を示した。(表6)

生物粒子を枯草菌芽胞よりやや大きい粒子径をもつルテウス菌にすると、測定器C, Dの低い捕集性能は変らなかったが、測定器Bでは捕集性能が5%から29.4%に上昇した。新開発測定器Aはピンホールサンプラと同一(99%以上)の高い捕集性能を示した。(表7)

バッテリーを動力源とする携帯型測定器においても、改良を加えれば100VのAC電源を動力とする定置型と同様の100%近い生物粒子捕集性能を有することが報告された。

表6 新開発および市販の携帯型空中浮遊菌測定器の枯草菌芽胞捕集性能

枯草菌芽胞 菌液濃度 (6.5×10^6 CFU/mL)	新開発測定器		市販測定器					
	測定器A		測定器B		測定器C		測定器D	
	基準器*	A	基準器*	B	基準器*	C	基準器*	D
平均コロニー数 (CFU/28.3L)	88.0	89.6	113.2	5.8	66.2	4.3	86	4.1
95%信頼区間	80.9~ 95.1	83.5~ 95.7	105.3~ 121.1	4.78~ 6.82	60.0~ 72.4	3.36~ 5.24	79.0~ 93.0	3.39~ 4.81
捕集効率(%)	101.8		5.1		6.5		4.8	

* 定置型測定器ピンホールサンプラー

表7 新開発および市販の携帯型空中浮遊菌測定器のルテウス球菌捕集性能

ルテウス球菌 菌液濃度 (4.5×10^6 CFU/mL)	新開発測定器		市販測定器					
	測定器A		測定器B		測定器C		測定器D	
	基準器*	A	基準器*	B	基準器*	C	基準器*	D
平均コロニー数 (CFU/28.3L)	50	49.8	45.9	13.5	45.8	1.9	42	1.4
95%信頼区間	44.7～ 55.3	45.3～ 54.3	40.5～ 51.3	11.8～ 15.1	40.7～ 50.8	1.28～ 2.52	37.2～ 46.9	0.61～ 2.19
捕集効率(%)	99.6		29.4		4.1		3.3	

* 定置型測定器ピンホールサンプラー

引用文献

- 1) 山崎省二：環境微生物の測定と評価，オーム社，p5-6(2001)
- 2) Wolf H.W.:Sampling microbiological aerosols. Public Health Monograph No.60 Public Health Service Publication No.686. U.S. Dept. of Health, Education and Welfare, Washington, D.C. (1959)
- 3) Brachman P.S.:Standard sampler for assay of airborne microorganisms. Science, 144, 1295 (1964)
- 4) NASA:Standard procedures for the microbiological examination of Space Hardware. NHB, August, 5340-1(1967)
- 5) NASA:Standards for clean room and work stations for the microbially controlled environment. NHB, August, 5340-2 (1967)
- 6) Gregory P.H. and Monteith J.L. :Airborne microbes. Cambridge University Press. (1967)
- 7) Dimmick R. L. and Akers A.B.:An introduction to experimental aerobiology. Wiley-Interscience. (1969)
- 8) 山崎省二：空気細菌測定法. 空気清浄17(7), 26-33(1980)
- 9) バイオインダストリー協会：平成2年度工業技術院委託調査研究「バイオプロセスの標準化に関する調査研究」成果報告書，7-74(1991)
- 10) 山崎省二，杉田直記，国安修，上村裕，木村正伸，森地敏樹：空中細菌測定器の捕集性能試験方法に関する研究. 第12回空気清浄とコンタミネーションコントロール研究大会予稿集，207-210(1993)
- 11) JIS K3836：空中浮遊菌測定器の捕集性能試験方法(1995)
- 12) 仲田幸博，杉田直記，三上壮介，尾之上さくら，山崎省二：携帯型空中浮遊細菌サンプラーの開発. 第17回空気清浄とコンタミネーション研究大会予稿集，113-116(1999)