

〈原著〉

一般環境におけるエアースンプラーを使用した空気浮遊菌の分布調査

松木 美貴^{1,2)}・眞野 容子^{1,2)}・古谷 信彦^{1,2)}*Distribution Survey of Floating Bacteria in General Environments by Air Sampler*Miki MATSUKI^{1,2)}, Yoko MANO^{1,2)} and Nobuhiko FURUYA^{1,2)}¹⁾Department of Clinical Laboratory Medicine, Faculty of Health Science Technology, Bunkyo Gakuin University,²⁾Graduate School of Health Care Science, Bunkyo Gakuin University

(2019年1月8日受付・2019年2月17日受理)

要 旨

空気中に浮遊したエアロゾル・飛沫の内部には、細菌、真菌、ウイルスといった病原体が含まれている。今回、エアースンプラーを使用し、ヒトが活動している状態における空気浮遊菌の分布状態を調査した。

一般環境(大学内)12カ所で調査した結果、すべての場所で空気浮遊菌が検出された。CNS, *Micrococcus* spp., *Corynebacterium* spp., *Bacillus* spp. が75%以上の場所で検出され、これらは皮膚常在菌として検出される菌と同一の菌種であった。また、約25%(3カ所)で methicillin sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA) が検出された。

実習室にて在室人数(1~40人)による空気浮遊菌数の変化を調査した結果、実習前に比べ、実習中は総菌数が9倍に増加した。増加に関与した菌はCNS, *Micrococcus* spp. であった。空気浮遊菌数が最も多かった実習中にMSSAが検出された。

今後、病院環境においてもエアースンプラーによるサンプリングを実施し、空気浮遊菌の分布状態を調査する。

Key words : 空気浮遊菌, エアースンプラー, *Staphylococcus aureus*, 皮膚常在菌

序 文

病院をはじめ医療関連施設では、院内感染や日和見感染が問題となっており、標準予防策に従った感染対策が行われている。感染の伝播経路には、接触感染、飛沫感染、空気感染の3経路があり、特に空気中に浮遊したエアロゾル・飛沫の内部には、細菌、真菌、ウイルスといった病原体が含まれている¹⁾。浮遊微生物の起源は、土壌、動物、人の皮膚および呼吸器などに常在する微生物、または着衣ないしは、内装材に生育した微生物であり、人の行動やくしゃみなどにより、空気中に放出される²⁾。特に *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., 真菌の胞子など乾燥に強い病原体は空気中で長期間生存し、環境表面に付着する。掃除やベッドメイキングの際に埃と

共に巻き上がり、再度空气中を漂うことが知られている^{1,3)}。 *Staphylococcus* spp. の中でも、methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) は院内感染の原因となり、医療関連施設では問題となっている。

一般に、室内の浮遊細菌の濃度や細菌種は在室者の影響が強く、大学講義室において、在室人数と浮遊細菌濃度に正の相関関係があることや⁴⁾、落下細菌数は午前より午後のほうが多いことが報告されている^{5,6)}。今回、一般環境(大学内)にて、講義中・実習中など、実際に生活、活動をしている状態で空気浮遊菌の分布状況を調査した。大学内実習室にて、在室人数による空気浮遊菌の変化も調査した。

方 法

1. 測定装置および使用器材

実施方法はISO14698-1:2003に従った。測定装置は

¹⁾文京学院大学保健医療技術学部臨床検査学科, ²⁾文京学院大学大学院保健医療科学研究科



図1 エア－サンプラー SAS スーパー ISO (アイネクス株式会社)

空気浮遊菌用エア－サンプラー SAS スーパー ISO (アイネクス株式会社) を使用した (図1)。サンプリングヘッドにある小さい穴を通して空気を吸引し、微生物が培地表面に衝突する多孔式衝突型のエア－サンプラーであり、1 μm 以上の粒子を 99.9% 捕集することができる⁷⁾ (ISO-14698-1 準拠)。エア－サンプラーの吸引空気量は、500 L (約 5 分) で設定した。トリプトソーヤ (SCD) 寒天培地 (日水製薬株式会社) をエア－サンプラーにセットし、サンプリングをした。サンプリングを終了した SCD 寒天培地は 35℃ 48 時間培養した。培地表面に生育したコロニー数を計数し、cfu (colony forming unit)/m³ を算出した。

菌種の同定法は、生育したコロニーにグラム染色を実施した。グラム陽性球菌はカタラーゼ試験を実施し、*S. aureus* の同定にはマンニット食塩培地 (日水製薬株式会社) を使用した。MRSA と MSSA の判定は CHROMagarMRSAII 寒天培地 (日本ベクトン・ディッキンソン

表1 一般環境 (大学内) におけるサンプリング場所の環境条件

実施日	サンプリング場所	在室人数 (人)	温度 (°C)	湿度 (%)
6月18日	実習準備室	2	25	63
6月21日	1階ラウンジ	5	25	68
7月4日	微生物実習室	15	25	66
7月14日	3階講義室	5	26	68
7月18日	出入口	28	27	76
7月18日	階段 (1～2階)	2	28	78
7月30日	2階廊下	2	30	68
8月22日	研究室 A	2	25	67
9月21日	研究室 B	2	25	60
9月21日	生化学実習室	80	25	60
10月15日	免疫血液実習室	40	25	50
12月4日	生理実習室	15	20	40

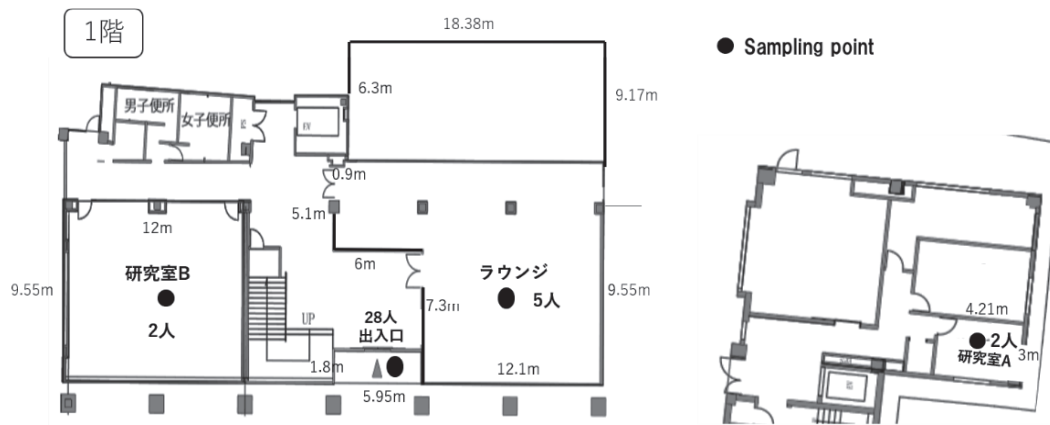


図2 大学内見取り図とサンプリング位置 (1階)



図3 大学内見取り図とサンプリング位置 (2, 3階)

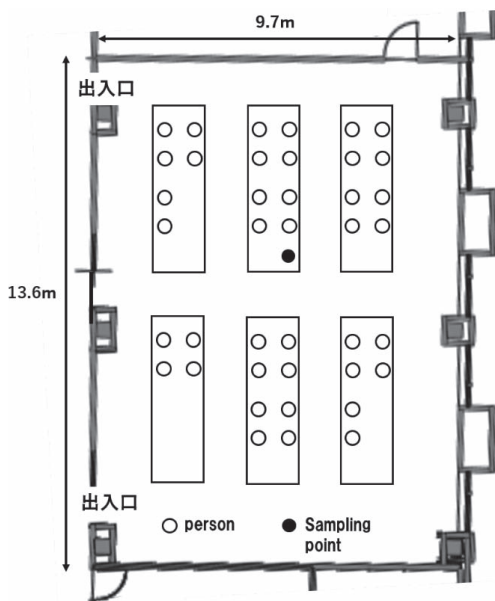


図4 免疫血液実習室の概略とサンプリング位置

表2 在室人数による検討条件

	サンプリング時間	在室人数
実習前	13:00	1
実習中 (着席)	14:30	40
実習中 (行動)	16:00	40
実習後 5分	16:30	1
実習後 10分	16:35	1
実習後 15分	16:40	1

避け、可能な限り部屋の中央にした。エアースンプラーは床面から70~80cmの高さに設置した。階段は1階床面から80cmの位置に設置した。室内の空調設備はすべてヒートポンプ式(マルチタイプ)であり、各場所のエアコンは運転状態でサンプリングを実施した。サンプリング条件を表1に各サンプリング場所の概略を図2, 3に示す。

2) 在室人数による空気浮遊菌数の変化

2018年10月15日13:00~16:40、文京学院大学、免疫血液実習室にて在室人数の変化による空気浮遊菌数(cfu/m³)とその種類を調査した。

免疫血液実習室は、血球算定検査・凝固検査・免疫学的検査を実施する実習室であり、当日は白血球数算定、血液塗抹標本の作製の実習を行っていた。クリーンルーム等の設備はなく、空調設備はヒートポンプ式(マルチタイプ)である。2か月間、実習はおこなわれていない状態で、実習準備のため、週に2~3人出入りがあった。

サンプリング当日は、温度25℃・湿度50%であった。エアースンプラーは床面から80cmの高さに設置した。

株式会社)を使用した。グラム陽性桿菌はグラム染色とコロニーの性状を確認し、属名を判定した。グラム陰性桿菌は、オキシダーゼ試験を実施し、必要に応じて確認培地を使用した。

2. 検討方法

1) 一般環境(大学内)における空気浮遊菌の検出率

2018年6~12月、文京学院大学構内の講義室、実習室、廊下、階段、出入口、研究室など、12ヵ所で10:00~16:00の間にサンプリングを実施した。

エアースンプラーの設置場所は、空調設備の排出口を

表3 一般環境（大学内）における空気浮遊菌の種類と検出率

(菌検出：+)

サンプリング場所	在室人数	cfu/m ³	MSSA	CNS	<i>Micrococcus</i> spp.	<i>Corynebacterium</i> spp.	<i>Bacillus</i> spp.
実習準備室	2	14			+		+
1階ラウンジ	5	58		+	+	+	
微生物実習室	15	36		+	+	+	+
3階講義室	5	16		+	+	+	
出入口	28	254	+	+	+	+	+
階段（1～2階）	2	58		+	+		+
2階廊下	2	112		+	+	+	+
研究室A	2	24		+	+	+	
研究室B	2	32		+	+	+	+
生化学実習室	80	202		+	+		+
免疫血液実習室	40	168	+	+	+	+	+
生理実習室	15	138	+	+	+	+	+
検出数 (n=12)			3	11	12	9	9
検出率 (%)			25	92	100	75	75

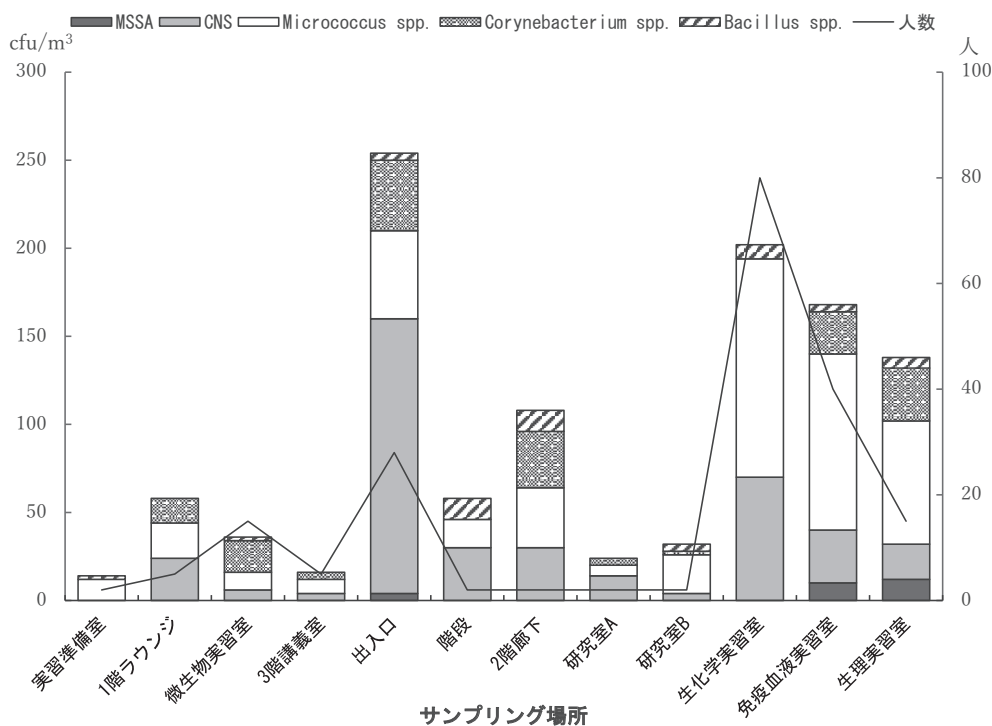


図5 一般環境（大学内）における空気浮遊菌の検出率

実習室の概略と人員配置を図4に示す。在室者はすべて長袖の白衣を着用していた。

サンプリングは実習前、実習中（着席）、実習中（行動）、実習終了後5分、10分、15分を実施した。検討条件を表2に示す。実習前は1時間、人の出入りのない状態でサンプリングをおこなった。

結 果

1. 一般環境（大学内）における空気浮遊菌の検出率

12カ所すべての場所で空気浮遊菌が検出された。菌種と検出数を表3、図5に示す。空気浮遊菌検出率は、MSSA3カ所（25%）、CNS11カ所（92%）、*Micrococcus* spp. 12カ所（100%）、*Corynebacterium* spp. 9カ所

(75%), *Bacillus* spp. 9カ所 (75%) であった。CNS, *Micrococcus* spp., *Corynebacterium* spp., *Bacillus* spp. が高頻度に検出される結果となった。

2. 在室人数による空気浮遊菌数の変化

在室人数による空気浮遊菌数の変化を図6に、種類別を表4に示す。

図6より実習前 (18 cfu/m³) に比べて、実習中 (着席) は約3倍 (60 cfu/m³) に、実習中 (行動) は約9倍 (168 cfu/m³) に空気浮遊菌が増加した。実習終了後は時間とともに菌数が低下した。表4より菌種別については、CNS, *Micrococcus* spp. が、実習時 (行動) に最大となり、実習終了後は時間とともに減少した。空気浮遊菌数の一番多い実習中 (行動) に MSSA が 10 cfu/m³ 検出された。その他の菌種, *Corynebacterium* spp., *Bacillus* spp., ブドウ糖非発酵菌については在室人数による変化は認められなかった。

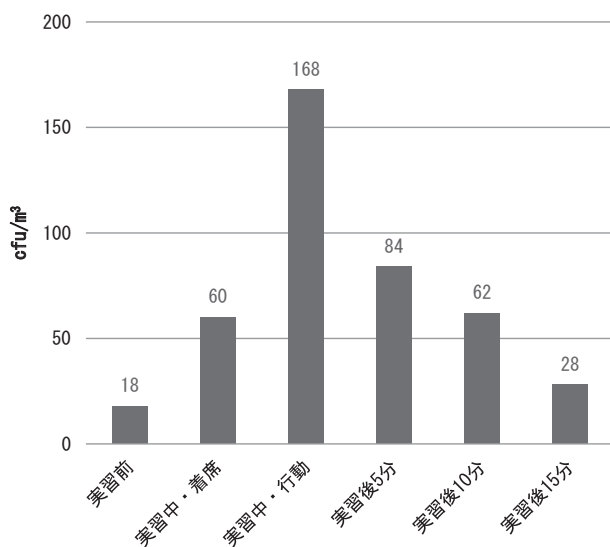


図6 在室人数による空気浮遊菌数の変化

考 察

一般環境 (大学内) より、75% 以上の場所で、CNS, *Micrococcus* spp., *Corynebacterium* spp. *Bacillus* spp. が検出され、CNS, *Micrococcus* spp. は、在室人数、人の行動と相関して増加した。CNS, *Micrococcus* spp., *Corynebacterium* spp. はヒトの皮膚に常在し、乾燥にも強い細菌であり、*Bacillus* spp. は土壌、ほこりなど広く自然界に分布している細菌である⁸⁾。ヒトの皮膚、土壌、埃など環境に広く分布する細菌が、一般環境の空气中に浮遊していることが明らかになった。また、これらの浮遊菌は血液培養汚染菌として頻繁に検出される細菌である。血液培養汚染菌は、CNS, *Micrococcus* spp., *Aerococcus* spp., *Corynebacterium* spp., α -streptococci, *Propionibacterium acnes*, *Bacillus* spp. (炭疽菌を除く) が主に挙げられる⁹⁾。好気培養条件下、SCD培地を使用したことより α -streptococci, *Propionibacterium acnes* は検出されなかったが、CNS, *Micrococcus* spp., *Corynebacterium* spp., *Bacillus* spp. が、一般環境の空气中に浮遊していた。これらの細菌は、SCD培地で培養可能または、培養中にVNC (viable but non-culturable) 状態から復帰可能な細菌である。血液培養検査において検出される汚染菌も、同じく血液培養ボトルに培養可能またはVNC状態から復帰可能な細菌である。血液培養における汚染の原因は、採血時の不十分な皮膚消毒、不衛生な採血操作、消毒薬や器具の汚染、血液培養ボトルが置かれている環境からの汚染、検査室内での手技など多岐にわたるが¹⁰⁾、直接的な原因は不明である。血液培養の汚染率を2%以下にすることは難しいとされている⁹⁾。血液培養採血時の消毒は、慎重におこなわれているにも関わらず、汚染菌が2%以下にならない原因は、通常の操作では回避できない理由があるのではないかと考える。血液培養汚染菌として検出される細菌と同じ種類の細菌が、空气中に浮遊しているという報告は今までにない。在室人数が多く、空気浮遊菌が舞い上がる環境で血液培養の採血をした場合、空気浮遊菌として存在す

表4 在室人数の変化による空気浮遊菌の種類

	単位: cfu/m ³					
	実習前	実習中 (着席)	実習中 (行動)	実習後 5分	実習後 10分	実習後 15分
MSSA	0	0	10	0	0	0
CNS	0	20	30	0	0	0
<i>Micrococcus</i> spp.	0	12	100	60	32	16
<i>Corynebacterium</i> spp.	18	26	24	18	26	4
<i>Bacillus</i> spp.	0	2	4	0	4	6
ブドウ糖非発酵菌	0	0	0	6	0	2
総浮遊菌数	18	60	168	84	62	28

る CNS, *Micrococcus* spp., *Corynebacterium* spp., *Bacillus* spp. が, 皮膚消毒後の穿刺部位, 採血器具や血液培養ボトルを汚染する一つの原因になるのではないかと今回の検討より推察する。

また, 一般環境の 25% の場所で *S. aureus* (MSSA) が浮遊していることが明らかになった。在室人数による浮遊菌数の検討では, 実習中 (行動時) に MSSA が 10 cfu/m³ 検出された。今回検出されたのは MSSA であったが, 病院環境では空气中に浮遊した MRSA が, 手指, 鼻腔粘膜に定着し, 患者や医療スタッフが MRSA の保菌者となる可能性も考えられる。

今後, 空気浮遊菌と血液培養汚染菌との関連について遺伝学的にも検索し, 病院環境においてもエアースンプラーによるサンプリングを実施する。

利益相反自己申告: 申告すべきものなし。

文 献

- 1) 田代将人, 泉川公一: 感染対策と微生物検査 4 環境調査の感染対策への活用 Role of environmental sampling for infection control. *モダンメディア* 2017; 63(5): 8-19.
- 2) 渋谷勝利: 浮遊微生物の測定方法. *Journal of aerosol research* 2003; 18(3): 172-6.
- 3) CDC and the Healthcare Infection Control Practices Advi-

sory Committee (HICPAC). Guidelines for Environmental Infection Control in Health-Care Facilities 2003.

- 4) Di Giulio M, Grande R, Di Campli E, Di Bartolomeo S, Cellini L: Indoor air quality in university environments. *Environmental Monitoring and Assessment* 2010; 170(1-4): 509-17.
- 5) Stryjakowska-Sekulska M, Piotraszewska-Pajak A, Szyszka A, Nowicki M, Filipiak M: Microbiological Quality of Indoor Air in University Rooms. *Polish J of Environ Stud* 2007; 16(4): 623-32.
- 6) Soto T, Garcia Murcia RM, Franco A, Vicente-Soler J, Cansado J, Gacto M: Indoor airborne microbial load in a Spanish university (University of Murcia, Spain). *Anales de Biologia* 2009; 31: 109-15.
- 7) エアースンプラー SAS スーパー ISO 取扱説明書 アイネクス株式会社.
- 8) 糸賀正道, 井上文緒, 齋藤紀先, 萱場広之: *Bacillus* spp. 陽性血液培養検体とリネン管理. *感染症学雑誌* 2016; 90(4): 480-5.
- 9) 小栗豊子, 三澤成毅, 西山宏幸: 検査材料別検査法と検出菌: 小栗豊子編, 臨床微生物検査ハンドブック第 5 版, 三輪書店, 2017. p. 101.
- 10) 浅利誠志, 満田年宏, 細川直登, 三澤成毅, 上原由紀, 大楠清文, 他: 血液培養検査ガイド. *日本臨床微生物学雑誌* 2013; 23: 1-142.

[連絡先: 〒113-0023 東京都文京区向丘 2-4-1
文京学院大学保健医療技術学部臨床検査学科 松木美貴
E-mail: mmatsuki@bgu.ac.jp]

Distribution Survey of Floating Bacteria in General Environments by Air Sampler

Miki MATSUKI^{1,2)}, Yoko MANO^{1,2)} and Nobuhiko FURUYA^{1,2)}

¹⁾Department of Clinical Laboratory Medicine, Faculty of Health Science Technology, Bunkyo Gakuin University,

²⁾Graduate School of Health Care Science, Bunkyo Gakuin University

Abstract

Aerosols or droplets that float in the air contain pathogens such as bacteria, fungi, and viruses. In this study, we investigated the distribution of airborne bacteria using an air sampler under the state where the human is in action.

We sampled airborne bacteria from the general environment at 12 sites in the university. Airborne bacteria were present at all sites. The strains of CNS, *Micrococcus* spp., *Corynebacterium* spp., and *Bacillus* spp. detected in the general environment at a high frequency (>75%) are often identified as skin indigenous bacteria. *Staphylococcus aureus* was detected in approximately 25% of the samples along with methicillin-sensitive *S. aureus* (MSSA).

Furthermore, we investigated the change in the number of airborne bacteria in the laboratory. The results demonstrated that, during laboratory training, the number of bacteria increased nine fold compared to the number before training. CNS, *Micrococcus* spp. is involved in the increase. Moreover, MSSA was also detected as one of the airborne bacteria during training.

We further aim to sample the air in hospital environments using Air Sampler and investigate the distribution of airborne bacteria under different conditions.

Key words: airborne bacteria, air sampler, *Staphylococcus aureus*, skin indigenous bacteria