

平成 22 年 6 月 11 日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2007～2009

課題番号：19790418

研究課題名（和文） 作業環境におけるバイオエアロゾルの曝露状況に関する研究

研究課題名（英文） : Research on exposure of bioaerosol in work environment

研究代表者

齊藤 宏之（HIROYUKI SAITO）

独立行政法人労働安全衛生総合研究所・国際情報・研究振興センター・主任研究員

研究者番号：10332397

研究成果の概要（和文）:

1) 捕集方法の検討：4種類のサンプラーならびに3種類の培地を用いて比較検討した結果、N6アンダーセンサンプラーとDG18培地の組み合わせが妥当であると考えられた。2) 作業環境における浮遊状況の把握：穀物荷揚げ作業、健康影響が発生した大学内の一室、古書取り扱い作業、および住宅リフォーム作業における真菌浮遊状況の調査を実施した。各々の空気中真菌の平均濃度は順に3940、2580、5225、1442 cfu/m<sup>3</sup>であり、これらの作業中には高濃度の真菌が浮遊している可能性が示唆された。健康影響を未然に防ぐためには浮遊状況の把握ならびにその結果に応じた措置が重要であると考えられる。

研究成果の概要（英文）:

1) Examination of sampling method: As a result of having compared it using four kinds of samplers and three kinds of culture media, a combination of N6-Andersen sampler and DG18 culture media was proper. 2) Grasp of the fungi level in some work environments: I investigated the fungi suspension situation in corn discharge work, one room in the university which health effect developed old book handling work, and house reforming work. The mean concentration of fungi in each environment was 3940, 2580, 5225, 1442 cfu/m<sup>3</sup>, respectively. The possibility that highly-concentrated fungi floated during these work was suggested. To prevent health effect, it is important that grasp of the suspension situation of fungi and measures depending on results.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,400,000	0	1,400,000
2008年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2009年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,200,000	540,000	3,740,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学 - 衛生学

キーワード：衛生，微生物，環境，測定方法，菌類

## 科学研究費補助金研究成果報告書

## 1. 研究開始当初の背景

バイオエアロゾルとは、空気中に浮遊する生物由来の粒子状物質の総称であり、カビなどの真菌や細菌などの微生物、花粉、有機粉じん等が含まれる。このなかで真菌や細菌は感染症やシック・ビルディング症候群（いわゆるシックハウス症候群）の原因となる場合が多いとされている。特に、昨今の室内環境は気密性が高く、換気が不十分であることが多く、結露に起因する真菌の汚染が深刻であるとされている。建物内の換気や VOC 濃度などとともに微生物がシックビルディング症候群に関与していることは米国 EPA も指摘している。

我が国の労働環境では一般的な粉じんに対する対策はなされてきたが、バイオエアロゾルに対する対策は行われてこなかった。近年になって法令が改正され、室内環境における微生物汚染防止対策を講じることが定められたに過ぎない。このように、近年まで問題視されてこなかったことから、労働現場におけるバイオエアロゾルの発生状況や曝露状況が把握されているとは言い難い状態である。加えて、既存の作業環境測定ではバイオエアロゾルの環境管理は対応できておらず、どのような管理体制が必要なのかどうかの検討も十分ではない。労働環境においてどのようなバイオエアロゾルがどの程度発生しているのかを把握することが対策の第一歩であることから、作業者の曝露状況の把握は急務であると考えられる。

## 2. 研究の目的

バイオエアロゾル（空気中に浮遊する生物由来の粒子状物質）は感染症やシックビルディング症候群などの原因となる場合が多いとされているが、我が国の労働環境では一般的な粉じんに対する対策のみで、バイオエアロゾルに関してはこれまで十分な対策がなされてこなかった。本研究では、労働環境におけるバイオエアロゾル曝露状況の把握、作業者の健康影響の把握、ならびにバイオエアロゾルの検出方法についての検討を行うことを目的とする。

## 3. 研究の方法

## (1) バイオエアロゾルの捕集方法についての検討

## サンプラーの検討

我が国で市販・使用されている空中浮遊菌サンプラーのうち、多孔式慣性衝突法によるもの 3 種類と濾過捕集法によるもの 1 種類の計 4 種類を用い、あらかじめ予備測定を行った研究所内の 2 箇所（場所 1：低濃度域、場所 2：高濃度域）にて同一時間帯における同

時捕集を行った。多孔式慣性衝突法によるものとしては SAS Super 100CR (PBI 社製)、Biostage (SKC 社製)、Biostage200 (SKC 社製) を用い、捕集媒体として 90mm 滅菌シャーレ上のジクロラン・グリセロール寒天培地 (DG18) を用いた。捕集後の培地は上下逆にした状態で 25℃ で 7 日間培養した後、コロニー数の計数を行った。濾過捕集法による捕集は、Microcheck II (Pall 社製、柴田科学扱い) ならびに MP-500 型ミニポンプ (柴田科学) を用い、流量 5 L/min、捕集時間 5~20 分) にて行った。捕集後、ポンプ接続口より液体培地 (M-Green YM Broth) を注入してメンブランフィルター背面の吸収パッドに培地を染みこませ、シリンダー部分を取り外して上下のキャップをし、上下を逆にした状態で 25℃ で 3 日間培養した後、コロニー数のカウントを行った。いずれの方法を用いた場合においても、カウントされたコロニー数ならびに捕集空気量からコロニー数濃度 (cfu/m<sup>3</sup>) を算出した。

## 培地の検討

サンプラーとして SAS Super100CR を、捕集媒体 (培地) として DG18, MEA, PDA を用いて同一時間帯・同一場所にてサンプリングを行った。25℃ で 7 日間培養後、コロニー数の計数を行うと共に、培地上のコロニーの形状やコロニー計数の容易さを観察した。

また、培地の種類による各種真菌の生育状況の比較を行うため、ポテトデキストロース寒天培地 (PDA)、麦芽エキス寒天培地 (MEA)、およびジクロラン・グリセロール寒天培地 (DG18) の各培地に数種類のカビ (糸状菌) 胞子を接種し、25℃ 4 日間培養後に生育状況を確認した。接種に用いたカビは、一般的なカビとして *Aspergillus flavus*, *Alternaria alternata*, 好乾性カビ 8 として *Aspergillus restrictus*, *Aspergillus penicilloides*, *Wallemia sebi*, 生育の早いカビとして *Rhizopus stolonifer*, *Trichoderma viride* の計 7 種類を用いた。

## (2) 作業環境における浮遊状況の把握

## 輸入穀物荷揚げ作業時における真菌浮遊状況の把握

米国より輸入されたトウモロコシを貨物船から荷揚げする作業中の船倉における空气中真菌濃度を測定した。Microcheck II (PALL 社製) および MP-500 (柴田科学) を用いて 4ml/min でサンプリング後、液体培地 (M-Green YM Broth) を注入し、25℃ 72 時間培養した。コロニー数を計数後、寒天培地上にて分離培養し、形態学的に菌種の同定を行った。併行して TR サンプラーによる粉じ

ん濃度の測定と、サンプルの採取を行った。サンプルのうち粉じん分画を滅菌水に 1/100, 1/1000, 1/10000 に懸濁し, DG18 培地に各 0.1ml を塗抹し, 25 °C 1 週間培養後にコロニー数を計数し, 分離培養ならびに形態学的な同定を行った。

健康影響の発生した大学内の一室における真菌浮遊状況の把握

健康影響(不快臭, 吐き気, 嘔吐, 頭痛)の発生した大学内一室ならびに対照となる2部屋にて空気中の真菌濃度を測定した。空気中の真菌は慣性衝突式空中菌サンプラー(SAS Super100CR, PBI 社製)にて 100L/min で DG18 寒天培地上に採取し 25 °C 1 週間培養後, 集落数の計数を行った。各集落を分離培養後, 集落の形状・色調ならびに顕微鏡観察による形態学的観察による簡易同定を行った。

古書取り扱い作業場における真菌浮遊状況の把握

古書取り扱い作業を行っている建屋内において, 空気中真菌のサンプリングを実施した。サンプリングを行った場所は作業場所近傍(n=2)および作業場所周辺の建屋内(n=7)である。サンプリングは SAS Super 100CR(ABI 社製, 100L/min)を用いて DG18 培地上に 1 分間(100L)実施した。サンプリングに用いた培地を 25 °C で一週間培養した後, 生育したコロニー数を計数し, Macher の公式にて補正後, 空気中集落濃度を算出した。生育したコロニーを PDA 培地および M40Y 培地に分離培養し, 生育状況や色調の観察, 実体顕微鏡観察, 生物顕微鏡観察等にて形態学的な同定を試みた。

住宅リフォーム作業における真菌浮遊状況の把握

住居として使用された後, 長期簡素公庫として用いられていたマンション一室のリフォーム作業中の真菌浮遊状況の調査を行った。リフォーム作業前(n=18)およびリフォーム作業中(n=18, うち, 壁紙剥がし作業(n=11), 木製棚解体作業(n=5), 内壁剥がし作業(n=2))の空気中真菌濃度を測定した。空気中の真菌は慣性衝突式空中菌サンプラー(SAS Super100CR, PBI 社製)にて 100L/min で DG-18 寒天培地上に採取し, 25 °C で 1 週間培養後, 集落数の計数を行った。各集落を分離培養後, 集落の形状・色調ならびに顕微鏡観察による形態学的観察にて簡易同定を行った。

#### 4. 研究成果

(1) バイオエアロゾルの捕集方法についての検討

サンプラーの検討

サンプラーによる測定結果の比較を図 1 に示した。場所 1 (低濃度域)における測定結果では, Biostage200 による測定値の平均値が他の 3 種類のサンプラーに比べてやや高かったが, 各サンプラー間には有意差は見られなかった。場所 2 (高濃度域)における測定結果では, Biostage および Biostage200 による測定値の平均値が他の 2 種類のサンプラーに比べて高く, ANOVA において有意な差(p=0.011)が認められた他, 多重比較でも SAS と Biostage の間に有意な差(p=0.027)が見られた。なお, 慣性衝突型による 3 種類のサンプラーを用いた測定では全サンプルにおいてコロニーのカウントが可能であったが, 濾過捕集法によるサンプラーである Microcheck II では, 急速に広がった菌糸の影響でコロニーのカウントが困難になるケースが 3 割程度観察された。このことから, Biostage (N6 アンダーセンサンプラー同等品)を用いるのが最も適当であると思われる。

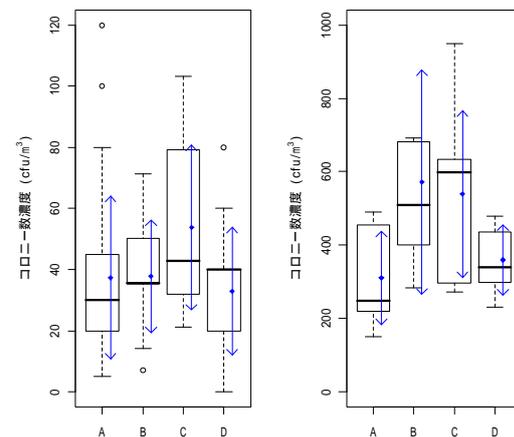


図 1: サンプラーの種類による測定結果の比較(左:測定場所 1, 右:測定場所 2) A: SAS, B: Biostage, C: Biostage200, D: Microcheck II

培地の検討

慣性衝突型サンプラー(SAS Super100CR)にて, DG18, MEA, PDA の 3 種類の培地によるサンプリングを行った結果, DG18 を用いた場合にはコロニーの分離が良好で, 全サンプルにてコロニーの計数が可能であった。MEA および PDA を用いた場合, 急速に広がる種類の糸状菌が生育することによってコロニーの分離が不明瞭となったり, 急速に広がった糸状菌に他のコロニーが隠れてしまうなどにより, コロニーのカウントが困難になるケースが観察された。カウント可能なサンプルは MEA では 11 サンプル中 3 サンプル(27.3%), PDA では 11 サンプル中 2 サンプル(18.2%)であった。

3種類の培地（PDA, MEA, DG18）に様々な種類のカビ（糸状菌）胞子を接種し、25℃ 4日間培養した際の生育状況を図4～6に、生育状況の比較を表3に示した。好乾性真菌である *Aspergillus restrictus*, *Aspergillus penicilloides*, *Wallemia sebi* はPDAおよびMEA上でほとんど生育しなかったが、DG18では生育は遅いものの、生育が認められた。また、生育の早い真菌である *Rhizopus stolonifer* および *Trichoderma viride* はPDAおよびMEA上では急速に生育し、シャーレ上を埋め尽くしたのに対し、DG18では適度な生育状況であった。*Aspergillus flavus* および *Alternaria alternata* は各培地ともに適度な生育状況であった。

室内環境においては *Aspergillus restrictus*, *Wallemia sebi*, *Eurotium sp.* 等の好乾性真菌の存在が無視できないとの報告もあることから、従来より広く用いられてきたPDAやMEAといった培地では過小評価してしまう可能性があり、DG18を用いることが最適と考えられる。

## (2) 作業環境における浮遊状況の把握

### 輸入トウモロコシ荷揚げ作業中における浮遊状況の把握

輸入トウモロコシ荷揚げ作業中の船倉における真菌濃度は、作業開始前(n=2)で作業開始前(n=2)で483～513 cfu/m<sup>3</sup> (平均498 cfu/m<sup>3</sup>)、作業中(n=5)で1400～7000 cfu/m<sup>3</sup> (平均3940 cfu/m<sup>3</sup>)であった(図2)。

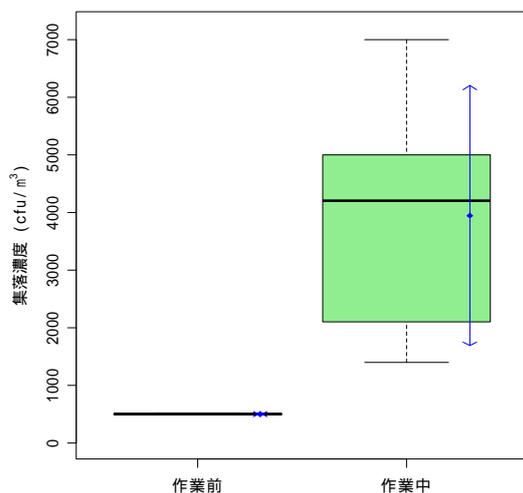


図2: 輸入トウモロコシ荷揚げ作業中における浮遊真菌濃度

検出された真菌はアフラトキシン産生能が疑われる *A. flavus* の他、*A. fumigatus*, *A. terreus*, *A. candidus*, *Trichoderma viride*,

*Eurotium sp.*, *Acremonium sp.*, *Rhizopus sp.*, *Penicillium sp.* であった。また、採取した粉じん中の真菌濃度は76,000～790,000 cfu/g (n=7, 平均297,143 cfu/g)で、当該作業中の粉じん濃度測定値(吸入性粉じん: 7.85mg/m<sup>3</sup>)を用いて換算すると、吸入性粉じん中の集落濃度として597～6,202 cfu (平均2,333 cfu/m<sup>3</sup>)となった。当該作業中の真菌濃度は環境中の濃度としては高いレベルである上、真菌以外の有機粉じんの濃度も許容値を大きく上回っていた。積み荷の汚染状態や輸送・貯蔵環境によっては、さらに真菌濃度や真菌毒濃度が高くなる可能性があることから、曝露防止対策を適切に行う必要があることが示された。

### 健康影響の発生した大学内の一室における真菌浮遊状況の把握

空気中の真菌集落濃度の測定結果を図3に表に示す。当該部屋の真菌濃度は中央机上で2490 cfu/m<sup>3</sup>、壁際で1317 cfu/m<sup>3</sup>、壁中で5352 cfu/m<sup>3</sup> (全平均2586 cfu/m<sup>3</sup>)と、対照とした他の部屋(隣室: 357 cfu/m<sup>3</sup>、真上の部屋: 154 cfu/m<sup>3</sup>)に比べて高い傾向が認められた。

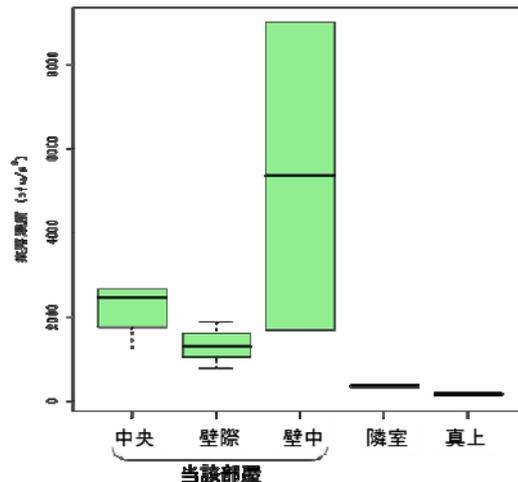


図3: 健康影響が生じた部屋ならびに対照場所における真菌集落濃度

形態学的な観察による簡易同定の結果、様々な種類の真菌が検出され、特に当該部屋では *Aspergillus restrictus*, *Aspergillus versicolor*, *Eurotium herbariorum* などの好乾性真菌が優勢である傾向が認められた。これらには室内環境において多く発生し、且つアレルギーとして強く作用することが知られている真菌が含まれていることから、今回の事例が真菌による健康影響である可能性も考えられる。本調査によって最終的な健康影響の原因の特定までは至らなかったが、当該場所は改修工事を行うことにより、発生源の除去が行われた。

## 古書取り扱い作業場における真菌浮遊状況の把握

古書取り扱い作業中の空気中真菌濃度を図4に示す。作業場所近傍(n=2)の平均濃度は5,225cfu/m<sup>3</sup>、作業場所周辺(n=7)の平均濃度は1,630cfu/m<sup>3</sup>であった。我が国には真菌に関する環境基準が現時点で存在しないが、作業中の平均濃度は米国 OSHA の汚染基準(1000 cfu/m<sup>3</sup>)を上回っており、ノルウェーにおける室内真菌汚染レベルに照らし合わせても、作業場所近傍で「非常に高い(2000 cfu/m<sup>3</sup>以上)」、作業場所周辺で「高い(500 ~ 2000 cfu/m<sup>3</sup>)」に相当するレベルであった。

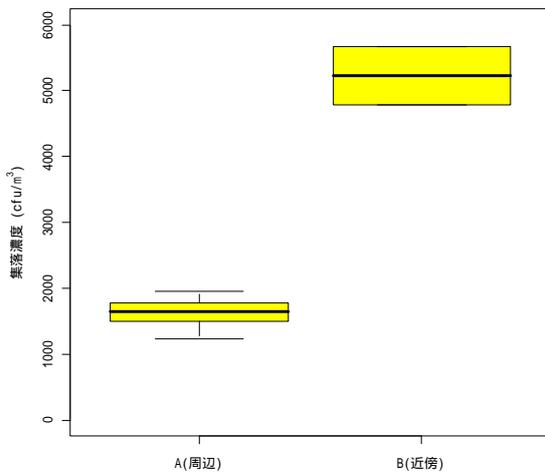


図4：古書取り扱い作業中における真菌浮遊濃度

同定された真菌は *Cladosporium* 属, *Penicillium* 属, *Aspergillus* 属, *Alternaria* 属, *Eurotium* 属, *Botrytis* 属, *Fusarium* 属 が検出された。このうち, *Cladosporium* 属, *Penicillium* 属, *Aspergillus* 属, *Alternaria* 属 が優勢であった。

この測定結果はあくまでも一例ではあるが、古書籍を取り扱う作業場所において真菌濃度が高い可能性があることを示唆するものであり、健康影響を未然に防ぐために定期的なモニタリングと、呼吸保護具の着用等の措置が必要であると思われる。

## 住宅リフォーム作業における真菌浮遊状況の把握

作業前の真菌濃度(平均 543.3 cfu/m<sup>3</sup>)に比べて、作業中の真菌濃度は平均 1441.6 cfu/m<sup>3</sup> と有意(n=0.002)に高値であった。作業中の濃度は壁紙剥がし作業(1550.0 cfu/m<sup>3</sup>)、内壁剥がし作業(1531.0 cfu/m<sup>3</sup>)、木製棚解体作業(1167.2 cfu/m<sup>3</sup>)の順であり、

各作業間の有意差は見られなかった。我が国には真菌に関する環境基準が現時点で存在しないが、作業中の平均濃度は米国 OSHA の汚染基準(1000 cfu/m<sup>3</sup>)を上回っており、ノルウェーにおける室内真菌汚染レベルに照らし合わせても、「高い」(500 ~ 2000 cfu/m<sup>3</sup>)に相当するレベルであった。

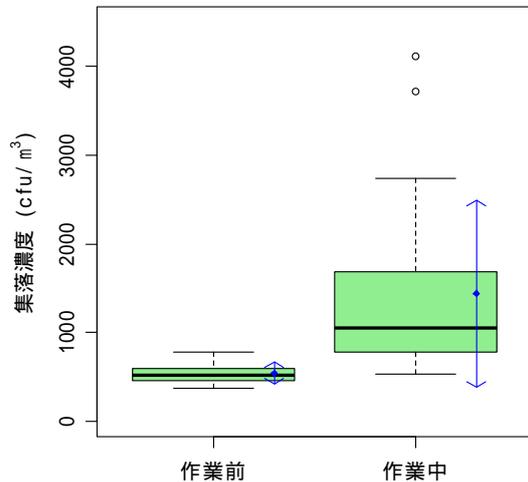


図5：住宅リフォーム作業中における真菌浮遊濃度

同定された真菌は *Cladosporium* 属, *Trichoderma* 属, *Aspergillus* 属, *Penicillium* 属, *Alternaria* 属, *Fusarium* 属, *Eurotium* 属, *Botrytis* 属, *Wallemia* 属, *Nigrospora* 属, *Stachybotrys* 属, *Ulocladium* 属, *Phoma* 属, *Pestalotia* 属 等であり、このうち *Cladosporium* 属 が最も優勢、次いで *Trichoderma* 属, *Aspergillus* 属, *Penicillium* 属, *Alternaria* 属 が優勢であった。

リフォームや解体の対象となる建築物は真菌に汚染されていることが多いと考えられることから、これらの作業中には空気中の真菌濃度が高くなる可能性がある。作業者の健康影響を防ぐためには、防じんマスクなどの適切なばく露防止対策を取るとともに、どのような作業場でどの程度の真菌が浮遊しているかどうか把握しておく必要があると考えられる。

これらの一連の研究により、作業環境中の浮遊真菌の測定方法ならびに、真菌が浮遊しやすいと思われる代表的な作業環境における真菌浮遊状況を把握することができた。我が国においては、現時点では測定方法、環境基準ともに定められていないが、本研究の結果はこれらを定める際に有用な知見を提供すると考えられる。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計2件)

- 1) 齊藤宏之：空气中真菌濃度の測定における捕集方法ならびに培地の影響．作業環境，査読有り 31 巻 4 号 2010 年 (Now Printing) .
- 2) 久永直見，榊原洋子，酒井潔，齊藤宏之：大学の研究室で生じた不快臭による吐気 - 発生源追求と対策 - ．愛知教育大学保健環境センター紀要，査読有り，Vol.7 p.21-25，2009 .

[学会発表](計8件)

- 1) 齊藤宏之：住宅リフォーム作業中における真菌浮遊状況の一例．第 83 回日本産業衛生学会 (2010 年 5 月，福井)
- 2) 齊藤宏之：古書取り扱い作業場における真菌浮遊状況について．第 49 回日本労働衛生工学会 (2009 年 11 月，金沢市)
- 3) 齊藤宏之，久永直見，榊原洋子，酒井潔：大学内の一室にて発生した健康影響ならびに浮遊カビ測定結果について．第 82 回日本産業衛生学会 (2009 年 5 月，福岡市)
- 4) 久永直見，榊原洋子，岩佐智，酒井潔，齊藤宏之：大学の研究室で生じた不快臭による吐気 - 発生源追求と対策 - ．平成 20 年度日本産業衛生学会東海地方会学会 (2008 年 11 月，津市)
- 5) 齊藤宏之：空气中糸状菌濃度の測定における捕集方法ならびに培地の影響．第 48 回日本労働衛生工学会 (2008 年 11 月，京都市)
- 6) 齊藤宏之，甲田茂樹，芹田富美雄，木村真三，鷹屋光俊，佐々木毅：輸入トウモロコシ荷揚げ作業における港湾労働者への職業リスクについて (第二報)：カビ (糸状菌) への曝露状況．第 81 回日本産業衛生学会 (2008 年 5 月，札幌市)
- 7) 甲田茂樹，芹田富美雄，木村真三，佐々木毅，齊藤宏之，鷹屋光俊：輸入トウモロコシ荷揚げ作業における港湾労働者の職業リスクについて (第一報)：アフラトキシン曝露に伴う健康リスクの評価．第 81 回日本産業衛生学会 (2008 年 5 月，札幌市)
- 8) 齊藤宏之，甲田茂樹，芹田富美雄，鷹屋

光俊，佐々木毅，木村真三：輸入トウモロコシ荷揚げ作業における粉じん，アフラトキシンならびに糸状菌への曝露状況について．第 47 回日本労働衛生工学会 (2007 年 11 月，名古屋市)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

齊藤 宏之

独立行政法人労働安全衛生総合研究所・国際情報・研究振興センター・主任研究員

研究者番号：10332397