

培養法及び RT-PCR アッセイによる廃棄物仕分けプラントの真菌調査

Higher School of Health Technology of Lisbon (ESTESL)/Polytechnic Institute of Lisbon (IPL)、ポルトガル、リスボン市

Context

固形廃棄物の処理中には、広範囲に亘る汚染物質が異なる経路で作業者に暴露されています。これらの汚染物質が相乗作用を起こし、健康に悪影響を及ぼさないかの懸念が高まっており、暴露調査については未だ多くの不確実な点があります。本研究 [1] では、リアルタイム PCR (RT-PCR) を使用し、廃棄物仕分けプラント内で、コリオリス μ で捕集した空気から 3 種の病原性/毒素産生真菌種 (アスペルギルスフラバス、*A* フミガーツス、スタキボトリス属) が検出されるかの調査を実施しました。この結果を、従来方法 (培養法) で検出した培養可能真菌と比較しました。

Material

- コリオリス μ 、滅菌サンプリングカップ、滅菌 PBS10ml+ 0.005% トリトン x100
- 従来法：ミリオアエアテスター (ミリオア)、滅菌シャーレ、麦芽エキス寒天培地 (MEA+クロラムフェニコール (0.05%))

Protocol

- サンプリング：施設内の作業場 5 か所及び戸外 (参考)
- コリオリス・サンプリング：300L/分、1 分。
RT-PCR によって分析した捕集液体サンプル (特定プライマーと TaqMan プローブを使用し、iQ リアルタイム検知システム (Bio-Rad) のリアルタイム PCR により各菌種の有無を確認)
- 従来法 (寒天培地)：衝突法により 50L 捕集 (140L/分)。寒天培地を 5-7 日、27°C で培養。

Results

従来法では、プラントのすべての箇所で最もよく見られたのがペニシリウム属でした。RT-PCR により、病原性/毒素産生菌種 (*A* フミガーツス及びスタキボトリス属) が作業場 2 か所で検出されました。培養法では検出されませんでした。(表 1)。この結果は、真菌暴露調査には従来手法と分子手法の組み合わせに利点があることを示しています

	真菌定量化 (CFU/m ³)	病原性/毒素産生菌種の検出*	
		培養法	リアルタイム PCR
サンプル	ペニシリウム属 (フルプレート)	検出されず	
LDPE1	ペニシリウム属 (フルプレート)	検出されず	
LDPE2	ペニシリウム属 (フルプレート)	検出されず	
Paper1	ペニシリウム属 (フルプレート)	検出されず	<i>A</i> フミガーツス
Paper2	ペニシリウム属 (フルプレート)	検出されず	
ホール	ペニシリウム属 (フルプレート)、 40 クモノスカビ	検出されず	<i>A</i> フミガーツス スタキボトリス属
屋外	320 ペニシリウム属、20 カメムシ 20 クリソスポリウム	検出されず	

表 1：検出された空中浮遊真菌の特性評価

*A フラバス、*A* フミガーツス、スタキボトリス属

室内空気の微生物揮発性有機化合物 (MVOC) 分析と併せ、入手したデータにより、バイオエアロゾル被ばくが健康に及ぼす可能性リスクを更に正確に評価することが出来ます。この結果、効果的に従業員を守る対策がこの研究を活用して展開出来ます。

[1] J. Malta-Vacas 他。廃棄物仕分けプラントに於ける真菌及び微生物揮発性有機化合物暴露についての調査、

[1] J. Malta-Vacas et al. Fungal and Microbial Volatile Organic Compounds Exposure Assessment in a Waste Sorting Plant, Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A: Current Issues, Volume 75, Issue 22-23, 2012, doi:10.1080/15287394.2012.721175

Conclusion

特に高い汚染レベルの環境下では、病原性/毒素産生菌種の存在が、他の優勢種に遮られることがあり、その検出には分子法は不可欠なものです。

コリオリス μ エアサンプラーは、従来手法 (培養法) と分子手法分析 (RT-PCR) を組み合わせ、廃棄物仕分けプラント内の真菌空気汚染調査を可能にしました。

