

www.coriolis-air sampler.com
New generation AIR SAMPLER
Quick & reliable air control



定量 PCR による堆肥製造施設に於ける

アスペルギルス・フミガーツス (*Aspergillus fumigatus*) の検出

国立物理研究所 (UK)



Context

バイオエアロゾル種を発生させる堆肥製造などの施設は現在、従来の微生物学的手法でモニターされていますが、この手法は時間がかかり、非常に高い濃度には適していないこともあります。本研究の大まかな目的は、新しいリアルタイムモニタリングネットワークを提案、テストし、堆肥製造施設の周囲に存在が疑われる有害生物種の排出量の定量化を行うことです。[1] 本研究では、指標細菌と考えられるアスペルギルス・フミガーツス真菌の検出に注目しました。この菌は特定のハイリスク者にとっては、その健康を害する可能性のあるものです。堆肥製造施設の境界フェンス (SP1、SP5) 及び境界フェンスの外側 (SP2、SP3、SP4; 各々70m、375m、300m離れた地点) に置いたコリオリスエアサンプラーでバイオエアロゾル捕集を行いました。1 サンプルにつき1 孢子の存在を検知するのに十分な感度があり、モニタリング効率を高める遺伝子ベースアッセイ (定量 PCR) によって、サンプルのアスペルギルス・フミガーツス分析を実施しました。比較のため、並行して、従来の微生物学的手法 (衝突法) によってもサンプル捕集を行いました

[1] A. Brown 他、" NPL レポート AS 33 バイオエアロゾル排出の迅速・反応モニタリングネットワーク "、
www.npl.co.uk/biotechnology/products-services/aspergillus-fumigatus-bioaerosol-monitoring-service

Material

- コリオリス MS、滅菌済サンプルカップ、50mM Tris-HCl pH 8.2、1mM EDTA、0.05% Tween 80。
- 従来の微生物学的サンプリング検査 (CMS): 寒天培地衝突法、Merck MAS-100 Eco。
- アスペルギルス・フミガーツスのミトコンドリア DNA をリアルタイム定量 PCR 分析

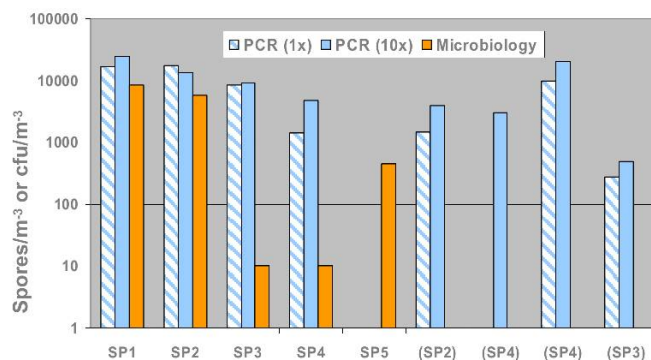
Protocol

- コリオリス MS: 毎分 630L、5~20 分。
- CMS: 毎分 100L、30 秒~5 分、麦芽エキース寒天培地 (MEA) + 0.01% w/w クロラムフェニコール。
- リアルタイム定量 PCR: サンプルを 1x (PCR (1x) 及び 10x 希釈 (PCR 10x)) で増幅、PCR 阻害を除去

Results

コリオリスサンプリングを使った新しい遺伝子ベースアッセイが、従来の微生物学的アプローチよりもより高いレベルのバイオエアロゾルの読み取りが可能であることがこの研究で明らかになりました。これは生育可能・不能両方のアスペルギルス・フミガーツス孢子を測定するもので、予想された結果でした。アッセイは極めて高感度です。

リアルタイム定量 PCR と微生物学的測定をグラフ比較。<10 の微生物学的値は10とし、リアルタイム定量 PCR 結果は 1 m³あたりの孢子数を表示: 微生物学的結果は cfu/m³で表示; SP5 はアクセスに問題があり、定量 PCR サンプルは捕集されず。()間のサンプルは後日サンプリングを継続した



Graphical comparison of real-time qPCR and microbiological measurements. Microbiological values reported as <10 are plotted as 10. Real time qPCR results are in spores/m³; microbiology results are in cfu/m³; no qPCR samples were collected at SP5 due to access problems. Samples between () are repeated sampling on later days.

Conclusion

本研究は有機性廃棄物処理施設のアスペルギルス・フミガーツス検出の向上とリスクのより良い評価に貢献しています。コリオリスサンプリングとリアルタイム定量 PCR アッセイの組み合わせが更に正確なアスペルギルス・フミガーツス汚染の定量化を可能にしています。

バイオエアロゾルのバックグラウンドレベル測定を組み入れ、また本新手法 (コリオリス+定量 PCR) と従来のコロニー計数法の比較、という更なる研究も進行中です。

