

# 生物气溶胶采样技术研究进展

张惠力<sup>1</sup> 甄世祺<sup>2</sup> 周明浩<sup>2</sup> 陈晓东<sup>2</sup>

(1. 常州市疾病预防控制中心, 江苏常州 213022; 2. 江苏省疾病预防控制中心, 江苏南京 210009)

**摘要:** 介绍了沉降法、撞击法和静电场吸附法等3种常见生物气溶胶采样技术的基本原理及各自的优缺点, 指出其发展趋势为建立复合式、大流量联合采样技术及小活性粒子的采样技术, 实现生物气溶胶的快速自动化采样。

**关键词:** 生物气溶胶; 采样技术; 静电场技术

中图分类号: X851 文献标识码: A 文章编号: 1006-2009(2011)04-0018-04

## Research Progress on Sampling Technology of Bioaerosol

ZHANG Hui-li<sup>1</sup>, ZHEN Shi-qi<sup>2</sup>, ZHOU Ming-hao<sup>2</sup>, CHEN Xiao-dong<sup>2</sup>

(1. Changzhou Center for Disease Prevention and Control, Changzhou, Jiangsu 213022, China;

2. Disease Prevention and Control Center of Jiangsu Province, Nanjing, Jiangsu 210009, China)

**Abstract:** The basic principles and advantages and disadvantages were described for 3 bioaerosol sampling methods including fallen plate method, impact method and electrostatic field method. The Bioaerosol collection had a development trend towards automatic and fast sampling by using multidisciplinary approach of large-flowing and covering small activity particulates.

**Key words:** Bioaerosol; Sampling technology; Electrostatic field technology

生物气溶胶 (Bioaerosol) 是含有生物源微粒的气溶胶, 粒径一般在  $0.5 \mu\text{m} \sim 100 \mu\text{m}$  之间<sup>[1]</sup>, 带有传染性、变异原形和毒性。生物气溶胶中包含细菌、真菌、过敏原、内毒素和多聚糖等, 可引起机体的一系列不适症状和疾病, 如过敏性疾病、传染性疾病、急性呼吸道疾病等<sup>[2-6]</sup>, 不仅给人群健康带来危害, 还会造成巨大的经济损失。

目前生物气溶胶的采样方法大体分为撞击式采样法、离心涡旋法和静电场沉降法等, 分析方法种类很多<sup>[7]</sup>。采样和分析方法各有长处和不足, 有时需相互协作以弥补不足。空气中生物气溶胶的含量是衡量空气质量的重要标准之一, 要了解其含量、种类和成分, 必须将稀疏散布的微生物气溶胶采集到局限性的表面和小体积的介质中, 并采取相应的分析技术。

### 1 常见的采样技术

采样技术是生物气溶胶暴露评价的基础, 采集量的多少和采集效率直接关系到最终的分析结果,

以及整个评价的准确性。采样器的选择则是采样技术的核心部分<sup>[7-8]</sup>。根据 Fanni (1980) 的建议, 在选择采样器时应考虑以下因素: ①灵敏度; ②采样效率; ③重复性; ④操作方便; ⑤有利于微生物存活; ⑥易于分析; ⑦粒子大小的区分; ⑧价格。

#### 1.1 沉降法

沉降法是最早和最简单的采样方法。自然沉降法由德国细菌学家 Koch 在 1881 年建立, 是利用空气微生物粒子的重力作用, 在一定时间内, 让所处区域空气中的微生物颗粒逐步沉降到带有培养介质的平皿内的一种采样方法<sup>[9]</sup>。该方法简单经济, 曾在我国基层医疗卫生部门广泛使用, 但也存在很多缺点, 如受气流干扰大, 很难采集到重力小的可吸入颗粒和小颗粒, 采样效率低, 误差大, 因而现在基本被废弃。

收稿日期: 2010-12-08; 修订日期: 2011-04-22

基金项目: 2007 年江苏省科技计划基金资助项目 (BS2007069)

作者简介: 张惠力 (1983—), 男, 山东惠民人, 医师, 硕士, 从事环境与健康及急性传染病控制研究工作。

## 1.2 撞击法

目前常用的采样方法为撞击法,并在此基础上设计加入了一些新技术,如离心、筛孔等。高效的采样仪器有很多,如RCS高气流采样器(Reuter Centrifugal Air Sampler, Biotest Corp.)、安德森N-6采样器(Graseby-Andersen, SKC Corp.)、表面空气采样器(SAS, PBI Corp.)等,已应用于室内空气监测<sup>[7]</sup>。采样时利用各种抽气装置,以每分钟恒定气流量,使生物气溶胶撞击并粘附于采集面上,从而被捕获<sup>[9]</sup>。伴随研究和现场应用,采样仪器也在不断改进和升级,不仅有现场采样仪器,还有便携式仪器,可以挂在衣领、胸口,监测人群24h的暴露情况。撞击式采样器也存在一定缺陷,如在采集过程中会造成微生物损伤。

### 1.2.1 摇安德森采样器

安德森采样器是美国安德森氏在1958年研制出的一种单级或多级筛板式空气微生物采样器,由6个带有微细孔眼的金属撞击圆盘组成,盘下放置培养皿(该平皿不能转动)。每个圆盘有100~400个环形排列小孔,由上到下孔径逐级减小,气流速度由此逐级增大,将粒子逐级撞击在平皿上。它不仅能测定空气中活性粒子数量,而且能测定其粒径大小。仪器操作简单,价格便宜,在细菌和真菌可培养性方面均优于目前通用的RCS高气流采样器。

安德森采样器具备以下特性:①采样粒谱范围广,一般为 $0.2\ \mu\text{m}$ ~ $20\ \mu\text{m}$ ;②采样效率高,对呼吸道最易沉着的粒子捕获率高;③微生物存活率较高;④操作简单,敏感性高。缺点是由于壁损失、粒子从采集面滑落和粒子被打碎等原因,造成采样结果产生误差,此外需要针对不同的采样目的,准备不同的培养基,手续复杂。

安德森采样器在生物气溶胶采集过程中会造成微生物损伤。研究发现,安德森采样器(AMS)将空气微生物直接收集到琼脂培养基上,培养基表面很快被微生物菌落(CFU<sub>s</sub>)覆盖,在采集过程中产生巨大压力,培养面积相对减少,使许多空气微生物被杀灭或很快进入休眠状态(state of viable but non-culturable, VBNC)<sup>[10-11]</sup>,造成传统的培养方法无法检测。

### 1.2.2 摇Biosampler液体撞击采样器

Biosampler液体撞击采样器利用喷射气流的方式,将生物气溶胶粒子收集在小体积的液体中。

其经典之处在于三头喷口,可将采样液吹成一个巨大的漩涡,增大气体接触液面的面积<sup>[12]</sup>。

Biosampler液体撞击采样器具有以下优点:①适用于高浓度的空气微生物采样;②能对采集的样品作多种分析;③采样时因气流冲击和采样液搅动,可将粒子中的微生物均匀分布于采样液中;④采样液有保护作用,对脆弱的微生物(如病毒、立克次氏体)也能采集;⑤使用方便,价格低廉,易消毒,可重复使用。缺点为:①不适于低温或长时间采样;②采样容量小,微生物浓度低时难以检测;③采样液易污染;④由于是玻璃制品,在现场采样中携带不便。

研究发现,Biosampler液体撞击采样器可以收集可吸入颗粒,同时避免了以往液体采样器存在的一些问题,如颗粒回弹、二次汽化及保存生物颗粒的完整性等(SK C Inc., Eighty Four, PA, USA)。该采样器对于粒径在 $0.5\ \mu\text{m}$ 以上颗粒的收集效率大约为90%<sup>[13]</sup>,而在实际环境中,细菌、真菌及其生物毒性物质一般托附在较大的惰性颗粒上<sup>[14]</sup>,因而其生物气溶胶收集效率比较高。此外,还能够直接将气溶胶转化为水溶胶(aerosol-to-hydrosol),从而减少了过滤膜应用障碍(如滤膜溶解等)。同时,收集的空气样品可直接采用ELISA分析技术定量过敏原及其他有害生物物质<sup>[15]</sup>,或通过分子生物技术评测细菌、真菌和病毒<sup>[16]</sup>。

## 1.3 静电场采样技术

静电技术采集空气中的生物气溶胶是近十年来自然科学关注的一个热点。美国耶鲁大学的Mainelis教授于1999年提出,静电场采样器在采集空气时,带电生物气溶胶冲击载体的速率要低于传统的撞击式采样装置<sup>[17]</sup>。还发现电场强度也是影响生物活性的一个重要因素,电场强度在 $5 \times 10^6\ \text{V/m}$ 左右,对一般生物的活性不存在危险性<sup>[18]</sup>。因此,静电场采样装置比撞击式采样器能更好地保持生物气溶胶的生物和物理完整性。在实验室中还模拟发现,静电场采样装置在生物体复苏方面好于Biosampler液体撞击采样器<sup>[8]</sup>,检测出空气中微粒多以正电荷为主<sup>[13,19]</sup>。国外研究还发现,静电场采样装置不仅可以采集到大颗粒物,还可以采集到小颗粒物<sup>[20]</sup>。

静电场采样技术的优点是浓缩空气倍数高,比沉降式和撞击式采样器能更好地保持微生物的形态和生物活性,对小粒子的捕获率高,实用性强

(适于空气中微生物浓度很低条件下的采样,尤其是空气中致病微生物的采样),符合未来生物气溶胶采样分析技术的发展趋势<sup>[21]</sup>。

静电场采样技术目前主要分为 3 种采样模型。

一种是沉降式静电采样仪器,主要通过带有电荷的纤维布或其他导体来收集空气中带电生物气溶胶颗粒,可以最大程度地保持微生物活性<sup>[22-23]</sup>。其代表是国外设计出的一种静电沉降收集器,主要由静电布组成,用于收集农场空气中的毒素。研究发现,这种静电沉降收集器可以有效收集空气中的内毒素,进一步验证了沉降静电技术的实用性<sup>[24]</sup>。不过该技术也存在弊端,最主要的是属于被动收集,只能采集到静电导体周边小范围内的带电颗粒,结果不能完全代表实际空气中的生物气溶胶浓度。

还有一种是离子充电型静电采样器,通过空气充电器,对进入采样器中的空气充电,给生物气溶胶颗粒施加电荷。有研究发现,这种采样器可以提高对空气中内毒素的收集效率<sup>[25]</sup>。虽然该方法增加了生物气溶胶的带电量,但也存在一定的副作用,如电晕现象,即充电器会产生臭氧或其他氧化物质,对细菌等微生物有杀灭作用,反而降低了采样器的采集效率<sup>[23]</sup>。此外,空气充电器也存在一定的危险性,且可重复性比较差,实验结果的可靠性存在一定问题<sup>[26]</sup>。

结合前两种采样模型的优劣,又发展了一种新型的静电场采样装置,采用主动采样的方法,用气泵将空气吸入采样器中,并通过静电场力的作用将带电的生物气溶胶颗粒收集到采样载体中。该装置未采用传统装置中的空气充电器,而是利用生物气溶胶的自然电荷,不仅简化了采样装置,而且避免了一些副作用,力求应用于现场工作时更方便。经系统研究发现,新型的静电场采样装置比传统的撞击式采样器更加高效,可以有效采集空气中的过敏原、病毒微粒及其他物质,研究前景十分广阔<sup>[27]</sup>。

## 2 展望

在过去的十几年间,国内外专家在生物气溶胶危险度评价方面开展了很多研究<sup>[13-15,21-24]</sup>,不断创造并更新了采样仪器。过去的研究注重于生物气溶胶的采集总量,而忽视了其对人群健康的影响。近些年的研究则着重于空气中有害微生物的

分类鉴定,同时采样器的设计也更加人性化,一般情况下采样头都设定在人的呼吸区域,以便更好地研究生物气溶胶对人体健康的影响。

建立一个完善、便捷、快速的生物气溶胶监测体系,配套相关有害微生物的危险阈值,并制定科学的环境技术评估体系,可促进我国环境监测仪器技术创新与发展,为污染物减排 3 大体系能力建设提供保障<sup>[28]</sup>。该体系建立后,可及时发现公共场所或住宅空气中致病微生物及有害微生物增多,采取有效措施,避免人群健康受到威胁<sup>[26]</sup>。空气质量状况监测是一个长期连续的过程,需要综合考虑到各方面因素,如天气、季节、房间朝向等<sup>[29-30]</sup>。

任何生物气溶胶采样都要求保证标本尽可能反映原始状态,但到目前为止,还没有一种采样技术能满足此要求。生物气溶胶采样与分析受多方面因素影响,有国外学者提出采用联合技术。目前其发展趋势为:①复合式生物气溶胶采样装置;②大流量生物气溶胶采样装置;③小活性粒子的生物气溶胶采样技术;④联合的生物气溶胶采样措施;⑤快速自动化是生物气溶胶采样的理想途径<sup>[31]</sup>。

致谢:

感谢北京大学环境科学与工程学院特聘研究员要茂盛教授对本研究的指导和帮助!

## [参考文献]

- [1] 摇 FISAR Z, HYSEK J, BINEK B, et al. Quantification of airborne microorganism and investigation of their interactions with non-living particles [J]. *International Journal of Biometeorology*, 1990, 34 (3): 189-193.
- [2] 摇 ALWIS K U, MANDRYK J, HOCKING A D, et al. Exposure to biohazards in wood dust: Bacteria, fungi, endotoxins, and (1→3)-beta-D-glucans [J]. *Applied Occupational and Environment Hygiene*, 1999, 14 (4): 598-608.
- [3] 摇 DOUWES J, THORNE P, PEARCE N, et al. Bioaerosol health effects and exposure assessment: Progress and prospects [J]. *Annals of Occupational Hygiene* 2003, 47 (3): 187-200.
- [4] 摇 FUNG F, HUGHSON W G. Health effects of indoor fungal bioaerosol exposure [J]. *Applied Occupational and Environment Hygiene* 2003, 18 (4): 535-544.
- [5] 摇 HUSMAN T. Health effects of indoor-air microorganisms [J]. *Scandinavian Journal of Work, Environment and Health*, 1996, 22 (1): 5-13.
- [6] 摇 ROBBINS C A, SWENSON L J, NEALLEY M L, et al. Health effects of mycotoxins in indoor air: A critical review [J]. *Applied Occupational and Environment Hygiene*, 2000, 15 (10): 773-784.

- [7] 摇PASANEN A L. A review : Fungal exposure assessment in indoor environments [J]. *Indoor Air* 2001 ,11 (2) 87 - 98.
- [8] 摇LEE K S ,BARTLETT K H ,BRAUER M ,et al. A field comparison of four samplers for enumerating fungal aerosols I. Sampling characteristics [J]. *Indoor Air* 2004 ,14 (5) 360 - 366.
- [9] 摇REN P ,JANKUN T M ,BELANGER K. The relation between fungal propagules in indoor air and home characteristics [J]. *Allergy* 2001 ,56 (5) 560 - 568.
- [10] 摇MILLER J D ,DALES P ,WHITE J. Exposure measures for studies of mold an dampness and respiratory health [N]. *Eastern New York Occupational and Environmental Health Center* ,1999 -02 (298 - 305).
- [11] 摇JONH F ,JONATHAN A ,WILLIAM C ,et al. DNA sequence of both chromosomes of the cholera pathogen *Vibrio cholerae* [J]. *Nature* 2000 ,3 (11) 477 - 483.
- [12] 摇CAROLINE D ,PETER S ,ANNE M ,et al. Comparison of endotoxin exposure assessment by bioaerosol impinger and filter-sampling methods [J]. *Applied and Environment Microbiology* , 2001 67 (6) 2775 - 2780.
- [13] 摇HAN T ,MAINELIS G. Design and development of an electrostatic sampler for bioaerosols with high concentration rate [J]. *Aerosol Science* 2008 ,39 (12) 1066 - 1078.
- [14] 摇LIN X ,REPONEN K ,WILLEKE Z ,et al. Survival of airborne microorganism during swirling aerosol collection [J]. *Aerosol Science Technology* 2000 ,32 (6) 184 - 196.
- [15] 摇STEWART S L ,GRINSHUPUN S A ,WILLEKE K ,et al. Effect of impact stress on microbial recovery on an agar surface [J]. *Applied and Environment Microbiology* ,1995 ,61 (4) :1232 - 1239.
- [16] 摇DILLON H K ,MILLER J D ,SORENSEN W G ,et al. Review of methods applicable to the assessment of mold exposure to children [J]. *Environmental Health Perspectives* ,1999 ,107 (3) : 473 - 480.
- [17] 摇MAINELIS G ,GRINSHUPUN S A ,WILLEKE K ,et al. Collection of airborne microorganisms by electrostatic precipitation [J]. *Aerosol Science and Technology* ,1999 30 (2) :127 - 144.
- [18] 摇YAO M S ,MAINELIS G ,AN H R. Inactivation of microorganisms using electrostatic fields [J]. *Environmental Science and Technology* 2005 ,39 (9) 3338 - 3344.
- [19] 摇MAINELIS G ,GORNLY R L ,REPONEN T ,et al. Effect of electrical charges and fields on injure and viability of airborne bacteria [J]. *Biotechnology and Bioengineering* ,2002 ,79 (2) 229 - 241.
- [20] 摇SILLANPAA M ,GELLERA M D ,PHULERIA H C ,et al. High collection efficiency electrostatic precipitator for in vitro cell exposure to concentrated ambient particulate matter (PM) [J]. *Aerosol Science* 2008 ,39 (4) 335 - 347.
- [21] 摇KELL D B ,KAPRELYANTS A S ,WEICHART D ,et al. Viability and activity in readily culturable bacteria : A review and discussion of the practical issues [J]. *Antonie van Leeuwenhoek* , 1998 ,73 (2) :169 - 187.
- [22] 摇GAYNOR P T ,HUGHES J F. Dust anchoring characteristics of electret fibres with respect to Der p1 allergen-carrying particles [J]. *Medical and Biological Engineering and Computing* ,1998 , 36 (5) 615 - 620.
- [23] 摇HUGHES J F ,KIPEN H M. Electrostatic targeting for allergen removal and pest control applications [J]. *Electrostatics* 2002 , 55 (3 - 4) 237 - 245.
- [24] 摇NOSS I ,WOUTERS I M ,VISSER M ,et al. Evaluation of a low cost electrostatic dustfall collector for indoor air endotoxin exposure assessment [J]. *Applied and Environmental Microbiology* , 2008 ,74 (18) 5621 - 5627.
- [25] 摇PLATTS J A ,CUSTIS N J ,WOODFOLK J A ,et al. Airborne endotoxin in homes with domestic animals : Implications for cat-specific tolerance [J]. *Allergy and Clinical Immunology* ,2005 , 116 (2) 384 - 389.
- [26] 摇GRINSHUPUN S A ,ADHIKARI A ,LEE B U ,et al. Indoor air pollution control through ionization [J]. *Air Pollution* ,2004 (14) 689 - 704.
- [27] 摇张惠力 ,周明浩 ,甄世祺 ,等. 静电场采样装置对室内空气过敏原采集效率的研究 [J]. *环境监测管理与技术* 2009 ,21 (2) 57 - 59.
- [28] 摇孙海林 ,左航 ,贺鹏. 环境监测专用仪器环境技术认证路线初探 [J]. *环境监测管理与技术* 2010 ,22 (1) 5 - 7.
- [29] 摇REN P ,JANKUN T M ,BELANGER K. The relation between fungal propagules in indoor air and home characteristics [J]. *Allergy* 2001 ,56 (5) 560 - 568.
- [30] 摇王秀茹. 预防医学微生物学及检验技术 [M]. 北京 :人民卫生出版社 2002 713 - 718.
- [31] 摇LEADERER B P ,BELANGER K ,TRICHE E ,et al. Dust mite , cockroach , cat , and dog allergen concentrations in homes of asthmatic children in the Northeastern United States [J]. *Environmental Health Perspectives* 2002 (5) 852 - 857.

本栏目责任编辑姚朝英

## 启摇事

本刊已许可中国学术期刊(光盘版)电子杂志社在中国知网及其系列数据库产品中,以数字化方式复制、汇编、发行、信息网络传播本刊全文。该社著作权使用费与本刊稿酬一并支付。作者向本刊提交文章发表的行为即视为同意我编辑部上述声明。