科学通报 2018 年 第 63 卷 第 21 期：2116 ~ 2127
《中国科学》杂志社
SCIENCE CHINA PRESS
香山科学会议 专栏 评 述
第600次学术讨论会 • 生物气溶胶与人类健康、国家生物安全及大气污染

室内空气中致病微生物的种类及检测技术概述

李晓旭[1]，翁祖峰[2]，曹爱丽[2]，刘琪[1]，隋国栋[1*]

1. 复旦大学环境科学与工程系，上海 200438;
2. 上海市浦东新区环境监测站，上海 200135
* 联系人，E-mail: gsui@fudan.edu.cn

2018-04-06 收稿，2018-06-11 修回，2018-06-20 接受，2018-07-10 网络版发表

摘要 生物气溶胶是存在于空气中的微小生物组分，主要包含各类真菌、细菌及其代谢产物、病毒、花粉等. 室内空气中生物气溶胶含有丰富的致病成分，并且这些致病成分已经引发了各种健康问题，因此受到了人们的广泛关注. 各类流行性疾病的发生也促使研究者更加致力于生物气溶胶的相关研究工作. 探究室内空气中的致病微生物的种类分布、可能的释放源头以及有效的检测方法，对降低生物气溶胶危害风险、实现室内致病性生物气溶胶的有效控制有重要意义. 本文将从室内空气生物气溶胶可引发的疾病角度对其种类和危害展开概述，同时，也对室内生物气溶胶的可能来源以及检测方法进行了详细的讨论，旨在帮助人们了解室内生物气溶胶与人类健康之间的关系，同时为相关微生物的重点检测和防治提供有价值的信息.

关键词 室内空气，生物气溶胶，致病微生物，种类，来源，检测方法

室内空气中存在的大量携带生物特质的颗粒物(aerosols)，被称作生物气溶胶(bioaerosols)[1]. 生物气溶胶包含各种可致病的和非致病的生物源组分，如：具有活性或失活的真菌(fungi)和细菌(bacteria)、细菌或真菌的毒素(toxins)、病毒(virus)、大分子过敏原(allergens)、花粉(pollens)等[2]. 这些复杂多样的生物气溶胶成分直接受到人类行为的影响，并且与人类健康密切相关，其中的致病性成分更是时刻威胁着人类的身体健康[3]. 生物气溶胶中的致病性成分以有活性的病毒、具有活性或休眠的细菌和真菌(孢子)为主，这些成分的粒径通常较小(病毒粒径可小于100 nm，细菌粒径主要在0.25~10 μm，真菌孢子粒径主要在1~30 μm)，如此微小的生物颗粒能够通过人的呼吸作用直接到达人肺深处，导致肺部疾病的发生并且增加患相关疾病的风险，甚至导致传染类疾病的发生[4]. 此外，这些生物气溶胶能借助空气传播数百米甚至几千米，借此可传播到公共场所的各个角落，极大地增加了其危害范围[5].

气溶胶中的致病微生物带来的潜在健康危害主要取决于微生物自身的致病能力，这些致病微生物可通过几种途径进入人体[6,7]: (1) 通过人的黏膜或皮肤与气溶胶发生直接的源头性接触; (2) 通过手口接触进入消化系统; (3) 通过呼吸作用进入呼吸系统. 生物气溶胶传播是很多疾病的主要传播模式，包括结核、严重急性呼吸综合症(SARS)、流感在内的传染性疾病、呼吸类疾病甚至肿瘤等.

每人每天大约要在室内度过90%的时间，如住宅、健身房、学校、工作场所、公共交通场所等[3,8]. 对于很多人来说，暴露于室内致病微生物所带来的健康风险可能会大于与室外污染有关的健康风险. 空气质量差的室内环境更容易对儿童、青少年、老年人、慢性呼吸道疾病患者和心血管疾病患者等弱势群体造成危害. 室内空气中的致病微生物种类繁多，致病机理各不相同. 绝大多数病原属于机会性致病微生

引用格式: 李晓旭, 翁祖峰, 曹爱丽, 等. 室内空气中致病微生物的种类及检测技术概述. 科学通报, 2018, 63: 2116–2127
Li X X, Weng Z F, Cao A L, et al. An overview about varieties and detection methods of pathogenic microorganisms in indoor air (in Chinese). Chin Sci Bull, 2018, 63: 2116–2127, doi: 10.1360/N972018-00328

© 2018《中国科学》杂志社

物, 即当环境适宜时, 病原数目和活性呈指数上升, 或者当人体免疫能力低下时(特别是儿童和老人), 致病微生物才有机会感染人体[7,9]. 但是, 此类感染一旦发生, 往往会造成严重的个体危害甚至引起群体间的传染. 院内感染被认为是成人和儿童住院治疗和并发症的主要障碍, 约有10%的病人会受到院内感染的影响[10]. 医院内的致病真菌如念球菌(*Candida*)、烟曲霉(*Aspergillus fumigatus*)等会引起肺炎, 肺炎感染在免疫功能正常的患者中并不常见, 但可以引起器官移植者或免疫功能低下患者死亡[10,11]. 医院内的其他病原体如大肠杆菌(*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、呼吸道合胞病毒(respiratory syncytial virus)、流感病毒等也在时刻威胁着病人[11,12]. 因此, 医院应该设置比正常室内环境更低的特殊微生物安全水平, 应该定期对医疗设备和医疗环境进行消毒, 使医院的致病微生物水平维持在安全线以下从而保证病人健康.

研究者们发现, 不同室内环境如学校、医院或住宅中, 甚至在同一建筑的不同房间(卧室和浴室)中, 微生物种群区别很大, 致病微生物的类别和数量也各不相同[13,14]. 因此, 室内空气中病原微生物的情况需要受到重视, 系统地了解不同种类的致病微生物对人体的危害以及室内环境中相关微生物的气溶胶产生途径, 对于疾病预防具有重要意义. 本文将从室内空气生物气溶胶可引发的疾病角度对其种类和危害展开概述, 并且对室内环境中常见或潜在的生物气溶胶的来源和检测方法进行讨论. 旨在提升人们对室内空气中的生物气溶胶, 特别是致病成分的直观性和系统性认识, 同时为相关微生物的重点检测和防治提供有价值信息.

1 空气中致病微生物的危害

室内微生物污染是引起儿童呼吸道疾病的主要因素之一, 其中哮喘是儿童中的常见的非传染性呼吸道疾病[15]. 根据世界卫生组织(WHO)于2016年12月发布的最新估计, 2015年有38.3万人死于哮喘[15,16], 而罹患哮喘的最大风险因素是吸入可能导致过敏反应或刺激呼吸道的微生物颗粒, 如尘螨、花粉、霉菌等[15,17].

生物气溶胶暴露可能会导致人体产生健康问题, 轻度导致过敏反应, 严重可能引起感染死亡. 致病微生物引起的疾病按照病原种类分类, 可分为细菌性疾病、真菌性疾病、病毒性疾病以及其他病原体引发的疾病. 下面本文对室内空气生物气溶胶可引发的疾病种类进行详细概述.

1.1 细菌性疾病

军团菌病、结核病、炭疽热等属于典型的细菌性疾病. 人类暴露在较低浓度的相关细菌生物气溶胶中即有很高的感染风险, 所以这几种疾病受到了人们广泛关注. 2015年, 参观过同一家温泉疗养院的游客集中爆发了军团菌病[18]. 军团菌病是由于感染了嗜肺军团菌(*Legionella pneumophila*)获得的肺部疾病. 该病菌对健康的人和免疫力较强的人威胁不大, 但是会引起老年患者和免疫力低下病人的感染[18,19]. 室内空气中的嗜肺军团菌通常源于通风和空调管路中积水内滋生的嗜肺军团菌, 这些细菌通过气溶胶形式散布在空气中. 2015年, 全球约有1040万例结核事件, 造成180万例结核病死亡, 其中至少100万(10%)是儿童[20]. 结核病是由结核杆菌(*Tubercle bacilli*)引起的慢性传染病, 结核菌能够侵入人体各种器官, 但主要侵犯肺脏, 称为肺结核病[20]. 结核杆菌的传播主要由痰检阳性的结核病人通过咳嗽、打喷嚏以及说话时呼出的带有病菌的气溶胶微滴分散到附近空气中. 炭疽热是由炭疽芽孢杆菌(*Bacillus anthracis*)引起的人畜共患传染病, 如果不及时诊断和治疗, 人类感染可导致高死亡率[21]. 炭疽的爆发主要来源于恐怖袭击, 对建筑物内部或者人流密集的室内场所(如地铁站)发动炭疽恐怖袭击, 会导致更多人口患病和死亡. 2001年美国遭遇的炭疽袭击造成5人死亡, 17人感染, 损失超过10亿美元[22]. 研究表明炭疽杆菌的孢子可以存活几十至几百年之久[22], 借助空气媒介进行传播更导致其控制难度增加. 室内环境空气流通率低于室外环境, 一旦致病微生物在室内环境滋生爆发, 居住或者工作其中的人群就会面严重的生命威胁. 因此, 监控室内病原微生物对于保证人们的健康安全具有重要意义.

院内感染约90%都是由细菌引起的, 其中医疗设备和医院环境是这些微生物的主要来源[10,23]. 在抗生素使用前期, 引起院内感染的细菌大部分是革兰氏阳性菌, 其中以酿脓链球菌(*Streptococcus pyogenes*)和金黄色葡萄色球菌为主[10,23]. 随着抗生素的使用, 革兰氏阴性菌如大肠杆菌和绿脓杆菌(*Pseudomonas aeruginosa*)逐渐成为主要的病原

体[10,23]. 随着广谱抗生素和微创治疗技术的应用和发展, 抗生素耐药的革兰氏阳性菌如凝固酶阴性葡萄球菌(*Coagulase-negative staphylococci*)、肠球菌(*Enterococci*)、耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(*Methicillin-resistant Staph. aureus*)等引起院内感染的频率逐渐增加[16,24].

1.2 真菌性疾病

大量关于室内空气环境中生物气溶胶成分的研究表明, 芽枝霉菌(*Acremonium*)、曲霉菌(*Aspergillus*)、青霉菌(*Penicillium*)以及链格孢菌(*Alternaria*)这4类真菌大量存在于各类室内空气中[25]. 其中, 芽枝霉菌、青霉菌以及链格孢菌的部分菌种能引发哮喘和鼻炎[22,25]. 青霉菌个别菌种孢子的暴发与过敏性肺炎流行有明显关系. 室内环境中的发霉味道是由于真菌产生的少量挥发性有机成分[3,26], 尽管这些挥发性成分不会直接影响健康, 但是它们与相关的真菌一起作用会加重患者的头痛、眼睛及喉咙刺激、恶心、头晕以及体乏等症状. 另外, 真菌的代谢产物中存在很多挥发性成分可对人眼睛和上呼吸道造成感官刺激与不适.

(1,3)-β-*D*-葡聚糖、内毒素、霉菌等真菌污染物具有过敏性、传染性和毒素效应, 敏感患者暴露其中可能会造成健康影响[25]. 最近, 一项研究指出霉菌毒素和β-葡聚糖的共同暴露表现出协同促炎相互作用[27]. 霉菌如黄曲霉(*Aspergillus flavus*)和烟曲霉(*Aspergillus fumigatus*)等可在各类室内环境中大量繁殖, 进而引发变应性支气管肺曲霉菌病、鼻窦炎、院内感染等[27,28]. 高浓度空气传播的烟曲霉孢子与重症监护病房中的侵袭性曲霉病爆发有关[28]. 除了烟曲霉以外, 曲霉菌、毛霉菌(*Mucor*)、拟青霉菌(*Paecilomyces*)等其他机会性致病真菌能够在患有艾滋病的免疫缺陷患者、糖尿病患者、老年人、器官移植者、癌症患者中引起各种各样的感染.

1.3 病毒性疾病

许多病毒通过生物气溶胶形式传播并感染人体, 常见的病毒性疾病包括流感、麻疹、腮腺炎和水痘等. 近年来, 通过空气途径传播的病毒性疾病更是接连暴发, 如: 新型冠状病毒(Coronavirus)导致SARS的流行[29]; 呼吸道合胞病毒造成的流感[30]; 源于啮齿类动物粪便的汉坦病毒(Hantavirus)引发的肺炎[31]等. 其中, 呼吸道合胞病毒是儿童病毒性呼吸道感染中最常见的病原. 通过气溶胶形式传播的常见病毒还包括水痘-带状疱疹病毒(V-Z virus)、麻疹病毒(measles virus)、腮腺炎病毒(mumps virus)以及风疹病毒(rubella virus)等. 病毒也是引起院内感染的重要病原体之一. 常见的院内感染包括流感病毒引起的流感、呼吸道合胞病毒引起的呼吸道感染以及病毒性肝炎等[32].

1.4 其他病原体引发的疾病

除上述疾病以外, 遗传性过敏症患者机体会对周围环境中的过敏原(花粉、室内尘螨、宠物皮屑、食物等)产生大量的免疫球蛋白[33,34], 导致过敏反应的发生. 此外, 细菌类过敏原和内毒素、革兰氏阴性菌携带的脂多糖同样会对过敏症患者造成严重威胁[34]. 研究表明, 内毒素除了可引发机体的呼吸道和消化道炎症反应之外, 还能引发一些职业性综合症的常见症状如腹泻、体乏、鼻腔过敏等.

2 室内微生物的来源

现在关于不同室内环境中微生物种类的研究很多, 但关于室内空气中微生物尤其是致病微生物来源的研究较少. 源-汇分析表明, 室外空气是大多数室内微生物的主要来源[35,36]. 除此之内, 室内因素(如居住者、宠物、发霉的物质、通风情况的好坏等)也影响着室内微生物的种群分布和数量[37,38]. 通过对室内微生物来源的研究, 将有助于人们深入了解室内微生物群落的影响因素, 从源头上降低室内生物气溶胶尤其是室内致病微生物对人类的危害风险. 下面分别对室内细菌、真菌和病毒的可能来源进行简单地概述.

2.1 细菌来源

室内微生物水平主要与居民和宠物的数量、清洁频率以及建筑物周围植被的丰度有关[37,38]. Prussin等人[39]分别检测了室外环境、教室、日托中心、餐厅、健康中心、办公室和3个住宅内的细菌水平. 检测结果表明, 不同的室内环境中, 细菌浓度差异不大, 约为10^5/m³(粒径范围0.5~5 μm), 室外环境中的细菌浓度约为不同室内环境的1.6倍.

如室外空气是室内微生物的主要贡献者一样, 室内空气中细菌的丰度与室外空气中的细菌数量呈

正相关. 伯克霍尔德菌(*Burkholderiales*)、假单胞菌(*Pseudomonadales*)、黄杆菌(*Flavobacteriales*)、链霉菌(*Streptophyta*)等室外空气中常见细菌在室内空气中也有较高浓度[39]. 室内空气中的细菌总量随着居民人数、活动量和自然通风频率的增加而增加, 并且与皮肤有关的细菌比例随着居民的数量增加而增加[37,38]. Bouillard等人[40]发现, 微球菌(*Micrococcus*)、葡萄球菌(*Staphylococcus*)和链球菌(*Streptococcaceae*)是办公楼空气中最常见的细菌. 这些细菌是人类正常菌群的代表, 进一步说明, 人类居住在一定程度上影响了室内空气中的细菌群落组成.

Miletto和Lindow分析了旧金山湾区29个住宅中的细菌的源-汇关系, 发现室外微生物可以通过自然通风进入室内(约占室内细菌来源的16.5%)[36], 居住者也可以将沉积在家门口的灰尘携带进入室内(约占室内细菌来源的5.6%)[36]. 人类皮肤与宠物释放的细菌约占室内细菌总量的4.9%和6.3%[36]. 此外, 地板(约占室内细菌来源的12.5%)和地毯(约占室内细菌来源的7.0%)是室内细菌重要的储存库[36], 可能会因为人类和宠物的走动以及人类清洁等行为, 成为室内细菌的二次来源. 粪便中一半以上的固体都是细菌[41], 在冲厕所时这些细菌会发生雾化. 研究表明, 每次冲厕所会产生145000个气溶胶颗粒, 并且99%以上的颗粒粒径小于5 μm, 这些小粒径微生物可以在室内停留数分钟甚至数小时[41]. 因此, 厕所是室内细菌的来源之一.

管道和空调系统是室内细菌的另一个重要来源, 同时也是室内机会性致病菌的来源之一. 大量研究表明, 淋浴装置和热水龙头在使用过程中可以向空气中释放军团杆菌[18,42,43]. 军团杆菌可以引起军团杆菌病和庞蒂亚克热[18], 这些疾病与肺炎等呼吸系统疾病类似, 严重时可能导致老年人死亡. Dondero Jr.等人[43]确认了室内军团杆菌的爆发与空调冷却塔污染有关. Ager和Tickner[44]证明暖通空调系统为军团杆菌的生长提供了有利的条件. 因此, 暖通空调系统是室内细菌尤其是致病细菌的重要来源之一.

2.2 真菌来源

Rostami等人[45]收集了马什哈德研究治疗中心的192份环境样本, 其中67份(约占室内样本总量的62.03%)室内样本和81份(约占室外样本总量的96.42%)室外样本检测出真菌, 几乎所有的病房都表现出很高的真菌污染率. 一般来说, 除了受到水侵蚀的建筑物外, 室内空气中发现的大部分真菌都来源于室外环境[23]. 室内和室外空气中的维多利亚隐球菌(*Cryptococcus victoriae*)、枝孢菌(*Cladosporium*)和青霉菌等真菌群落结构都呈现出季节性的变化[46].

除了室外环境, 室内真菌的来源主要包括3方面: 皮肤、土壤以及室内受到水侵蚀的材料. 2008年的一项研究表明, 室内灰尘中的14%微生物是马色拉菌(*Malassezia*)[47], 马色拉菌是一种与花斑藓、脂溢性皮炎和头皮屑有关的细菌. Yamomoto等人[48]发现教室里的地板灰尘中富含与皮肤相关的酵母菌(*Skin-associated yeasts*), 如红酵母菌 (*Rhodotorula*)、假丝酵母菌 (*Candida*)、隐球菌 (*Cryptococcus*). 所以, 皮肤是室内真菌的来源之一. 土壤中的真菌含量丰富, 大多数土壤湿生真菌可以黏附在鞋上, 随着居住者进入室内. 土壤在施工过程中可以变成气溶胶形式, 通过气流运动或者人类活动进入室内, 成为室内真菌的来源之一.

与皮肤和土壤相比, 受到水侵蚀的材料对室内真菌的贡献更大. Dales等人[49]分析了来自400多个家庭中的生物气溶胶样本, 发现在受到水侵蚀的家庭中的曲霉菌和青霉菌数量是正常水平的2倍. Flappan等人[50]发现, 在受到水侵蚀的家庭中, 室内空气中具有毒性的葡萄穗霉菌(*Stachybotrys atra*)的高达420 spores/m^3. 因此, 受到水侵蚀的建筑材料是室内真菌来源之一. 除此之外, 淋浴系统、槽系统以及洗碗机也会产生真菌生物气溶胶, 主要包括曲霉菌、青霉菌、枝孢菌等[3,49,51,52].

2.3 病毒来源

与细菌和真菌不同, 室内空气中的病毒浓度与室外环境的关系并不明显, 人类活动是影响室内空气中病毒的群落结构和数量主要因素. 流感病毒、人鼻病毒、冠状病毒、腺病毒、呼吸道合胞病毒、肠道病毒是室内环境中常见并且易传播的病毒[39,53,54].

Boone和Gerba[53]分析了来自5个城市的12间办公室的328份样本, 其中37%的样本检测出了人副流感病毒. Lindsley等人[55]研究发现, 流感患者感染后每次咳嗽会产生约75400个颗粒物, 患者恢复后每次咳嗽后会产生约52200个颗粒物. 据推测, 流感患者产生的颗粒物中含有病毒. 因此, 流感病毒携带者可能是室内流感病毒的重要来源. 人呼吸道和唾液中

携带许多其他类型的细菌和病毒, 因此在咳嗽、打喷嚏、说话、甚至呼吸时, 都会向室内空气中释放微生物. 当这些微生物为致病微生物并达到一定浓度时, 可能会引起人体健康损伤甚至造成人类死亡.

3 室内微生物的检测方法

室内空气质量(IAQ)对公共卫生安全来说是一个日益重要的问题. 从环境安全角度出发, 微生物空气质量也是室内工作场所设计时必要考虑的重要标准. 对室内生物气溶胶进行富集和检测是保证室内微生物空气质量的前提. 近年来, 生物气溶胶的富集和检测等相关技术和方法, 越来越受到国内外学者们的重视. 现将生物气溶胶的富集方法和检测技术的研究进展综述如下.

3.1 生物气溶胶的采样方法

生物气溶胶采样方法多样, 许多方法仍然处于发展阶段. 目前为止, 既没有一种采样方法也没有一种采样标准方案适用于收集各种不同类型的空气微生物. 固体撞击法、液体冲击法和过滤法是生物气溶胶的常用收集方法. 除了这3种方法外, 有时自然沉降法、静电沉降法和气旋法有时也用于收集生物气溶胶. 表1列举了不同采样方法的优缺点.

3.1.1 固体撞击法

固体撞击式采样器利用固体培养基(例如琼脂)收集生物气溶胶, 具有成本低、易于处理的优点. 采样器吸入空气气溶胶并迫使气体改变方向, 导致具有高惯性的粒子撞击固体培养基表面[56]. 一般来说, 较小的粒子会通过采样器, 大于特定空气动力学直径的微生物撞击到收集平面上被收集起来.

商业用途的撞击式采样器多种多样, 喷嘴数、喷嘴尺寸、喷嘴形状、喷嘴到培养基的距离以及采样器级数都有可能存在差异. 其中以Anderson采样器最为著名, 应用最为广泛. 2013年, Lal等人[57]通过具有单个喷嘴的采样器收集室内和室外的空气微生物. Xu和Yao[58]使用六级安德森采样器定量检测北京不同室内环境(包括医院、学生宿舍、实验室、酒店房间等)的真菌和细菌生物气溶胶. 撞击法采样器成本低、操作简单, 同时可以进行分级采样, 因此应用广泛.

3.1.2 液体冲击法

液体冲击法与撞击法类似, 只是液体冲击法将微生物收集到液体培养基中. 通常情况下, 空气通过一个狭窄的进口管被吸入, 一旦空气冲击到培养基液体表面, 悬浮的颗粒物就会接触到液体培养基从而被收集起来. 液体冲击器在使用前需要经过灭菌处理, 采样完成后, 在合适的培养条件下, 收集到的微生物可以生长. 与固体撞击式采样器类似, 入口处风速显著影响液体冲击器的收集效率和回收效率. 有研究指出, 当入口处风速为4.5 m/s时, 收集效率为9.6%, 当空气静止时, 收集效率上升至99%[59].

表 1 生物气溶胶采样技术的优缺点对比

Table 1 Advantages and disadvantages of bioaerosol sampling techniques

生物气溶胶采样技术	优点	缺点
固体撞击法[57,58]	成本低、应用广泛; 直接将微生物收集在培养基中, 无需后取样过程; 采样器无需消毒处理, 即可用于收集下一个样本; 可对生物气溶胶的可吸入组分进行分级采样	通过固体撞击采样器收集的微生物, 只能用培养法进行计数; 对高污染空气进行采样时, 菌落重叠使计数困难; 风速会影响采样效率
液体冲击法[59]	此技术应用广泛, 易获得大量数据; 液体基质提高了微生物负载量, 并不易对微生物造成损伤; 对接下来的计数和检测方法要求低	使用前采样器需要经过灭菌处理; 液体蒸发可能会引起微生物损失; 风速会影响采样效率; 采样器不能对生物气溶胶进行分级采样
过滤法[60,61]	操作简单, 成本低; 对接下来的计数和检测方法要求低; 采样器可以对生物气溶胶进行分级采样	在高污染环境中进行采样时, 微生物可能超过滤器的承载量; 过滤器过于干燥时, 可能会使微生物的回收效率降低; 风速会影响采样效率
自然沉降法[62]	操作简单, 成本低; 可以同时同地在多个采样点进行采样, 而不会扰乱气流; 结果可靠; 实验可重复	受周围气流影响大; 对小粒径微生物富集效率低; 与其他定量检测方法关联性差; 采样时间长
静电沉降法[63]	微生物不易受到外加干扰; 回收效率高; 可以用于收集低浓度的微生物	电荷可能会影响细菌的活力
微流控芯片技术[64,65]	富集效率高; 洗脱体积小; 操作简单	成型复杂, 需要特定的仪器; 不能进行分级采样
气旋法[56]	收集效率高; 消毒过程简单	液体蒸发可能会引起微生物损失

液体冲击采样器种类繁多，包括全玻璃冲击采样器(All Glass Impinger 30)，美国SKC微生物气溶胶采样器(The SKC BioSampler)，Burkard多级采样器(Burkard multistage sampler)，改进型个人采样器(modidified personal sampler)，多孔冲击式采样器(the multi-orifice impinge)，多级液体冲击采样器(Multi-stage liquid impinge). 大多数液体冲击采样器由玻璃制成，比金属采样器(如安德森采样器)价格低. 另外，液体冲击采样器对接下来的计数和检测方法要求低，液体基质不易对微生物造成损害.

3.1.3 过滤法

与撞击法和冲击法相比，过滤法的原理更简单，成本更低廉. 过滤器的滤膜一般为具有孔隙结构的纤维素膜、尼龙膜、碳酸脂膜或者玻璃纤维膜. 过滤法采样器对尺寸大于过滤器滤膜表面微孔直径的微生物有很高的捕获效率.

有研究指出，不同材料组成的含有不同孔径的过滤器对直径大于0.035 μm的颗粒过滤效率高达95%[60]. 因此，过滤法可以用于高效率地收集生物气溶胶中的细菌、真菌、花粉以及通过空气传播的病毒等. 通过过滤器捕获的生物气溶胶中的微生物仍然具有活性，甚至可以通过从空气中(如有机灰尘)吸收水分和营养物质在过滤器上生长. Wang等人[61]发现，当温度超过30℃，相对湿度从30%增加到85%时，过滤采样器收集到的真菌繁殖体仍然可以存活. 过滤式采样器可以进行分级采样，但由于过滤式采样器的承载量有限，故不适用与高污染的环境中.

3.1.4 其他采样方法

自然沉降法是一种简单、经济的采样方法. 在一定条件下，将培养基暴露于空气中，微生物会在重力的作用下被收集到培养基中. 自然沉降法主要收集大分子生物颗粒，对小分子生物颗粒收集效率不高，因此不能正确指示空气中微生物信息. 但是，Pasquarella等人[62]认为，重力沉积法可以在不扰乱空气的前提下，同时对同一环境中的不同位置进行监测进而帮助科学家进行比较和分析，因此重力沉积法具有可重复性和可靠性.

静电沉降法遵循颗粒沉淀的基本原理，通过在带电粒子上施加电力使颗粒物从气流中沉淀出来. 静电沉降式采样器能更好地保护微生物的生物活性，并且对小粒子的捕获效率较高. 静电沉降采样器可以将空气浓缩，可以用于收集低浓度微生物，因此静电沉降采样器适用于收集空气中低浓度的致病微生物. Mainelis等人[63]研究表明，当在采样器进口处不施加额外电压时，带电生物颗粒仍然可以在采样器内部电场作用下沉积在带电板上.

由于通过撞击式采样器和冲击式采样器收集生物气溶胶会限制微生物活性，所以研究人员开发了一些新的生物气溶胶采样方法，如微流控芯片[64~66]和气旋式采样器[56]. 微流控芯片采用独特的鱼骨结构，可以对空气产生扰动，引起气流混乱，从而吸附其中的微生物颗粒，具有富集效率高、洗脱体积小的优点. 气旋采样器通过旋转空气使气流形成一个锥形体，空气中的微生物在离心力的作用下被捕获到液体中. Henningson和Ahlberg[56]的研究表明，对于革兰氏阴性细菌，气旋采样器的回收效率相对于AGI-30液体冲击式采样器的效率为100%±10%.

3.2 生物气溶胶中微生物的检测方法

微生物的检测是生物气溶胶监测中的第2大步骤. 微生物检测方法可以分为2大类，即培养法和非培养法.

3.2.1 培养法

培养法是一种传统的微生物检测方法，操作简单，成本低廉. 在适当的培养条件下(包括时间、温度、氧气浓度等)，收集到的微生物可以在培养基上形成菌落(CFU). 假设单一菌落由单一微生物形成，所以CFU可以表示样本中的微生物数量. 迄今为止，世界各地已经开展了多项研究，用来评估工作、居住和教育场所等室内环境中的微生物负载量.

表2列举了几种培养法鉴定微生物技术. (1) 显微镜法是一种简单经济的方法，根据菌株的形态，在显微镜下区分不同的真菌孢子和有机物质[67]. 最可能计数法主要用于定量液体样本中存在的微生物. (2) 激光诱导荧光法(LIF)是一种主要用于检测具有选择性的微生物(特别是细菌)和研究分子结构的光谱方法，可以在所有可能的角度获得发射的荧光辐射，所以可以获得二维或三维图像，具有很高的灵敏度[68,69]. (3) 基质辅助激光解吸/电离(MALDI)是一种软电离技术，主要用于质谱分析中生物分子以及有机大分子物质的检测. 但是，由于基质带来的信号强烈，MALDI-TOF技术鉴定范围有限，只能鉴定超过600 Da的化合物(如蛋白质、多肽等)[68]. (4) 激光诱导击穿光谱技术(LIBS)主要应用于细菌检测. 科学家

表 2 生物气溶胶分析技术的优缺点对比
Table 2 Advantages and limitations of various analysis techniques

生物气溶胶分析技术	优点	缺点
培养法		
显微镜法[67]	性价比高, 操作简单; 可用于鉴定微生物种类	只能鉴定经培养可繁殖的微生物; 测量精度差
最可能数法[68]	操作简单, 省时省力	统计学方法, 不能测得微生物的实际数量; 细胞聚集可能会影响计数结果
激光诱导荧光法[68,69]	灵敏度高	由于粒子碰撞时会发生荧光淬灭以及潜在的光化学作用, 有时难以定量
基质辅助激光解吸/电离飞行时间[68]	易于操作, 价格合理; 灵敏度高	只能分析数据库中已有的化合物(如蛋白质); 不适用分析分子量小于600 Da的化合物
激光诱导击穿光谱技术[70]	使用温和的电离技术, 可以用于分析混合物; 样品制备过程简单, 样本不易发生污染; 样本需求量少、灵敏度高; 具备快速分析生物气溶胶的能力; 具有直接检测生物气溶胶的潜力	系统分辨率有限; 成本高、操作复杂; 半定量技术; 分析过程中, 易受到干扰
非培养法		
荧光显微镜法[72]	既可鉴定培养后可繁殖的微生物, 又可鉴定培养后不可繁殖的微生物; 操作成本低、可以用于高通量分析	荧光染料与非生物颗粒结合会造成假阳性结果; 图像分析系统不适合计算发生聚集的细胞
聚合酶链式反应技术[73]	灵敏度高; 检测快速、适用范围广	样本制备操作不当, 可能导致PCR定量不准确
流式细胞仪技术[74,75]	与荧光显微镜法相同	与荧光显微镜法相同
宏基因组学和下一代测序技术[76,77]	灵敏度高、测序时间短; 适用于任何含有核酸的生物气溶胶样本	仪器运行成本高、运行时间长
变性梯度凝胶电泳[77,78]	可以同时分析多个样本; 可以监测微生物群落随时间的变化; 对DNA序列变异敏感	耗时; 半定量技术; 只适用于短片段的分析
微流控技术[64,65]	效率高、特异性高; 高通量、简单快速; 反应试剂用量少	成型复杂, 需要特定仪器; 价格偏高
生物标记物和微生物成分分析法[79,80]	可以确定微生物的种类; 应用范围广	无生物标记物测量的标准方法; 分析结果易受到灰尘等其他物质的影响

将纳秒和飞秒激光脉冲与LIBS技术结合成功鉴定大肠杆菌[70]. 培养法的主要缺点是, 环境中可以培养和鉴定的微生物比例很小(约为10%)[71], 因此培养法不能提供空气中的微生物总数信息.

3.2.2 非培养法

随着荧光染料的发展, 定量液体培养基中收集到的所有微生物(包括可培养微生物和不可培养微生物)已经成为可能. 基因组学和测序技术的发展, 以及非培养分子技术(如遗传指纹图谱、基因组学和下一代测序技术)的进步, 不仅有助于识别和量化微生物负载量, 还有助于帮助了解微生物种群可能发生的变化. 此外, 色谱法、免疫测定法和聚合酶链式反应(PCR)等方法的进步, 帮助扩大了微生物的鉴定范围. 以下是几种非培养法鉴定微生物技术.

基于荧光显微镜技术, Kildesø和Nielsen[72]在实验中使用Baclight染料对微生物细胞进行染色. 传统的聚合酶链式反应(PCR)已经成为分析生物气溶胶总细菌负载量的替代方法. PCR技术已经用于分析空气样本中的分支杆菌和与健康有关的真菌. 最近, 实时定量荧光PCR(RT-PCR)发展迅速, 成为能够准确测量环境样品中微生物总浓度的新技术. 与常规PCR技术不同, RT-PCR不通过凝胶电泳进行扩增结果分析, 而是通过荧光信号对PCR过程进行实时检测. 在2006年, Zeng等人[73]开发了两种RT-PCR系统, 用于检测室内外环境中常见的霉菌. 流式细胞仪技术(FCM)是一种可以通过光学手段定量检测真菌和细菌的技术. 流式细胞术经常与荧光原位杂交(FISH)组合使用, 来定量和区分不同的细胞. Day等人[74]已经将流式细胞术用于定量和鉴定空气中的细菌. Lange等人[75]用FCM和培养法分别分析从猪谷仓收集到的生物气溶胶(主要是铜绿假单胞菌), 发现与FCM相比, 培养法将微生物浓度低估了2个数量级.

2013年，Yooseph等人[76]应用宏基因组测序技术对纽约的各种室内室外环境中的微生物群落进行了研究. 与传统的Sanger测序相比(表2)，下一代测序方法(NGS)可以更快更经济地完成RNA和DNA的测序. NGS也被称为高通量测序，适用于细菌和真菌检测. 在过去几年中，通过使用Illumina测序仪和焦磷酸测序仪，NGS已经用来表征各种空气样本中的微生物群落. 使用Illumina测序仪，对引起有机粉尘毒性综合征(ODTS)的空气微生物样品进行研究，其中测序数据显示空气样品中的细菌超过150种，真菌超过25种[77].

Muyzer等人[77]在1993年首次将变性梯度凝胶电泳(DGGE)应用于微生物群落研究. 2012年，Lecours等人[78]使用Qiagen QIAamp DNA提取试剂盒提取了奶牛场空气尘埃中的DNA，并使用聚合酶链式反应-变性梯度凝胶电泳(PCR-DGGE)方法对其进行分析，检测到了金黄色葡萄球菌、根癌土壤杆菌(*Agrobacterium tumefaciens*)等细菌. 近年来将微流控技术与免疫荧光、PCR、环介导等温扩增技术(LAMP)联用，已经成功应用于结核杆菌、金黄色葡萄球菌、肺炎克雷伯(*Klebsiella pneumoniae*)等微生物的检测[64,65]. 此外，由于大多数健康问题的产生都是由于暴露于微生物产物如内毒素、真菌毒素等产生的，所以评估室内微生物暴露风险时，检测这些化合物的含量往往比检测微生物更有用. 多种先进方法，如PCR，免疫测定法，色谱法等，可以用来测量生物标记物，从而帮助鉴定微生物类别[79,80]. 非培养法检测简单快速，既可鉴定培养后可繁殖的微生物，又可鉴定培养后不可繁殖的微生物，但培养法用到的检测仪器价格一般比较昂贵，需要专业的技术操作人员.

生物气溶胶采样技术和鉴定技术对于评估生物气溶胶水平是至关重要的. 在决定使用适当的方法之前，应该知道所有方法的优点和缺点. 不同的检测方法有不同的缺陷，因此可以将多种技术结合起来，以克服每种技术的局限性.

4 结论

室内空气是一个动态系统，在这个动态系统中，生物颗粒和非生物颗粒分散其中并且不断运动. 生物气溶胶种类丰富、来源复杂，易于传播，会引起人类急性和慢性疾病. 室内环境中的生物气溶胶尤其是其中的致病微生物会对人体健康造成多种多样的危害，包括引起流感、呼吸类疾病、结核、SARS甚至肿瘤等. 因此，全面系统地了解这些致病微生物种类、来源以及采样和检测方法，有助于提高室内空气污染物的检测和控制水平，从而改善人类居住环境的空气质量、保障人体健康.

参考文献

1 Jensen P A, Todd W F, Davis G N, et al. Evaluation of eight bioaerosol samplers challenged with aerosols of free bacteria. Am Ind Hyg Assoc J, 1992, 53: 660–667
2 Kilburn K H. Summary of the 5th international conference on bioaerosols, fungi, bacteria, mycotoxins, and human health. Arch Environ Health, 2003, 58: 538–542
3 Cincinelli A, Martellini T. Indoor air quality and health. Int J Environ Res Public Health, 2017, 14: 4535–4564
4 Majchrzycka K, Gutarowska B, Brochocka A. Aspects of tests and assessment of filtering materials used for respiratory protection against bioaerosols. Part I: Type of active substance, contact time, microorganism species. Int J Occup Saf Ergon, 2010, 16: 263–273
5 Zhu C, Kawamura K, Kunwar B. Organic tracers of primary biological aerosol particles at subtropical okinawa island in the western North Pacific rim. J Geophys Res Atmos, 2015, 120: 5504–5523
6 Kanaani H, Hargreaves M. Deposition rates of fungal spores in indoor environments, factors effecting them and comparison with non-biological aerosols. Atmos Environ, 2008, 42: 7141–7154
7 Diaz M E, Law S E, Frank J F. Control of pathogenic microorganisms and turbidity in poultry-processing chiller water using UV-enhanced ozonation. Ozone Sci Eng, 2001, 23: 53–64
8 Lakey P S J, Wisthaler A, Berkemeier T, et al. Chemical kinetics of multiphase reactions between ozone and human skin lipids: Implications for indoor air quality and health effects. Indoor Air, 2017, 27: 816–828
9 Mendes R, Garbeva P, Raaijmakers J M. The rhizosphere microbiome: Significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms. FEMS Microbiol Rev, 2013, 37: 634–663
10 Al-Shenqiti A, Bahashwan S A, Ghanem S, et al. Nosocomial infections in intensive care and medical rehabilitation units, and evaluation of antibiotics prescription. Afr J Microbiol Res, 2017, 11: 776–783

11 March Roselló G A, Eiros Bouza J M. Nosocomial respiratory viral infection. An Sist Sanit Navar, 2014, 37: 265–279
12 Garcíapatiño M G, Garcíacontreras R, Liconalimón P. The immune response against acinetobacter baumannii, an emerging pathogen in nosocomial infections. Front Immunol, 2017, 8: 441
13 Sebastian A, Larsson L. Characterization of the microbial community in indoor environments: A chemical-analytical approach. Appl Environ Microbiol, 2003, 69: 3103–3109
14 Luksamijarulkul P, Kiennukul N, Vatthanasomboon P. Laboratory facility design and microbial indoor air quality in selected hospital laboratories. Southeast Asian J Trop Med Public Health, 2014, 45: 746–755
15 Ichinose M, Sugiura H, Nagase H, et al. Japanese guidelines for adult asthma 2017. Allergol Int, 2017, 66: 163–189
16 Arokiasamy P, Uttamacharya, Kowal P, et al. Chronic noncommunicable diseases in 6 low- and middle-income countries: Findings from wave 1 of the world health organization’s study on global ageing and adult health (SAGE). Am J Epidemiol, 2017, 185: 414–428
17 Tarlo S M, Arif A A, Delclos G L, et al. Opportunities and obstacles in translating evidence to policy in occupational asthma. Ann Epidemiol, 2017, 28: 392–400
18 Kuroki T, Amemura-Maekawa J, Ohya H, et al. Outbreak of legionnaire’s disease caused by legionella pneumophila serogroups 1 and 13. Emerg Infect Dis, 2017, 23: 349
19 Messi P, De N S, Anacarso I, et al. Legionella pneumophila in healthcare settings: Sensitivity to biocidal treatments in mono- and multi-species biofilms. J Hosp Infect, 2017, 97: 200–201
20 Szkwarko D, Hirsch-Moverman Y, Du P L, et al. Child contact management in high tuberculosis burden countries: A mixed-methods systematic review. PLoS One, 2017, 12: e0182185
21 Vieira A R, Salzer J S, Traxler R M, et al. Enhancing surveillance and diagnostics in anthrax-endemic countries. Emerging Infect Dis, 2017, 23: S147–S153
22 Inglesby T V, Henderson D A, Bartlett J G, et al. Anthrax as a biological weapon: Medical and public health management. Working group on civilian biodefense. JAMA, 2001, 285: 1735–1745
23 Shiferaw T, Gebr-Silasse L, Mulisa G, et al. Bacterial indoor-air load and its implications for healthcare-acquired infections in a teaching hospital in ethiopia. Int J Infect Con, 2016, 12: 1–9
24 Chen Y C, Lin C F, Rehn Y F, et al. Reduced nosocomial infection rate in a neonatal intensive care unit during a 4-year surveillance period. J Chin Med Assoc, 2017, 80: 427–432
25 Liu Z, Cheng K, Li H, et al. Exploring the potential relationship between indoor air quality and the concentration of airborne culturable fungi: A combined experimental and neural network modeling study. Environ Sci Pollut Res, 2017, 25: 3510–3517
26 Piecková E. Indoor Microbial Aerosol and Its Health Effects: Microbial Exposure in Public Buildings—Viruses, Bacteria, and Fungi. Cham: Springer, 2017
27 Thrasher J D. Fungi, bacteria, nano-particulates, mycotoxins and human health in water-damaged indoor environments. J Comm Pub Health Nurs, 2016, 2: 2
28 Heutte N, André V, Arvis C D, et al. Assessment of multi-contaminant exposure in a cancer treatment center: A 2-year monitoring of molds, mycotoxins, endotoxins, and glucans in bioaerosols. Environ Monit Assess, 2017, 189: 31
29 Li Y, Duan S, Yu I T, et al. Multi-zone modeling of probable sars virus transmission by airflow between flats in block e, amoy gardens. Indoor Air, 2005, 15: 96–111
30 Borchers A T, Chang C, Gershwin M E, et al. Respiratory syncytial virus—A comprehensive review. Clin Rev Allergy Immunol, 2013, 45: 331–379
31 Bi Z, Formenty P B, Roth C E. Hantavirus infection: A review and global update. J Infect Dev Ctries, 2008, 2: 3–23
32 Shatokhin A. Problem of nosocomial infection with Hepatitis *b*, *c* viruses and HIV in Russian dental institutes: Review. Retrovirology, 2010, 7: 133
33 Kanchongkittiphon W, Mendell M J, Gaffin J M, et al. Indoor environmental exposures and exacerbation of asthma: An update to the 2000 review by the institute of medicine. Environ Health Perspect, 2015, 123: 6
34 Dutkiewicz J, Mackiewicz B, Lemieszek M K, et al. Pantoea agglomerans: A marvelous bacterium of evil and good. Part I. Deleterious effects: Dust-borne endotoxins and allergens—Focus on cotton dust. Ann Agr Env Med, 2015, 22: 576–588
35 Nazaroff W W. Indoor bioaerosol dynamics. Indoor Air, 2016, 26: 61–78
36 Miletto M, Lindow S E. Relative and contextual contribution of different sources to the composition and abundance of indoor air bacteria in residences. Microbiome, 2015, 3: 1–14
37 Meadow J F, Altrichter A E, Kembel S W, et al. Indoor airborne bacterial communities are influenced by ventilation, occupancy, and outdoor air source. Indoor Air, 2014, 24: 41–48
38 Hospodsky D, Qian J, Nazaroff W W, et al. Human occupancy as a source of indoor airborne bacteria. PLoS One, 2012, 7: e34867

39 Prussin A J, Garcia E B, Marr L C. Total concentrations of virus and bacteria in indoor and outdoor air. Environ Sci Technol Lett, 2015, 2: 84−88
40 Bouillard L, Michel O, Dramaix M, et al. Bacterial contamination of indoor air, surfaces, and settled dust, and related dust endotoxin concentrations in healthy office buildings. Ann Agr Env Med, 2005, 12: 187−192
41 Johnson D, Lynch R, Marshall C, et al. Aerosol generation by modern flush toilets. Aerosol Sci Technol, 2013, 47: 1047−1057
42 Perkins S D, Mayfield J, Fraser V, et al. Potentially pathogenic bacteria in shower water and air of a stem cell transplant unit. Appl Environ Microbiol, 2009, 75: 5363−5372
43 Jr D Dondero T, Rendtorff R C, Mallison G F, et al. An outbreak of legionnaires' disease associated with a contaminated air-conditioning cooling tower. N Engl J Med, 1980, 302: 365–370
44 Ager B P, Tickner J A. The control of microbiological hazards associated with air-conditioning and ventilation systems. Ann Occup Hyg, 1983, 27: 341−358
45 Rostami N, Alidadi H, Zarrinfar H, et al. Assessment of indoor and outdoor airborne fungi in an educational, research and treatment center. Ital J Med, 2017, 10: 52–56
46 Lee T, Grinshpun S A, Martuzevicius D, et al. Relationship between indoor and outdoor bio-aerosols collected with a button inhalable aerosol sampler in urban homes. Indoor Air, 2006, 16: 37–47
47 Scott J A, Summerbell R C, Green B J. Detection of Indoor Fungi Bioaerosols. Wageningen: Wageningen Academic Publishers, 2011
48 Yamamoto N, Hospodsky D, Dannemiller K, et al. Indoor emissions as a primary source of airborne allergenic fungal particles in classrooms. Environ Sci Technol, 2015, 49: 5098–5106
49 Dales R E, Miller D, Mcmullen E. Indoor air quality and health: Validity and determinants of reported home dampness and moulds. Int J Epidemiol, 1997, 26: 120–125
50 Flappan S M, Portnoy J, Jones P, et al. Infant pulmonary hemorrhage in a suburban home with water damage and mold (*Stachybotrys atra*). Environ Health Perspect, 1999, 107: 927–930
51 Hoseinzadeh E, Taha P, Sepahvand A, et al. Indoor air fungus bioaerosols and comfort index in day care child centers. Toxin Rev, 2017, 36: 125–131
52 Döğen A, Kaplan E, Öksüz Z, et al. Dishwashers are a major source of human opportunistic yeast-like fungi in indoor environments in Mersin, Turkey. Med Mycol, 2013, 51: 493–498
53 Boone S A, Gerba C P. The prevalence of human parainfluenza virus 1 on indoor office fomites. Food Environ Virol, 2010, 2: 41–46
54 Yang W, Elankumaran S, Marr L C. Concentrations and size distributions of airborne influenza a viruses measured indoors at a health centre, a day-care centre and on aeroplanes. J R Soc Interface, 2011, 8: 1176–1184
55 Lindsley W G, Pearce T A, Hudnall J B, et al. Quantity and size distribution of cough-generated aerosol particles produced by influenza patients during and after illness. J Occup Environ Hyg, 2012, 9: 443–449
56 Henningson E W, Ahlberg M S. Evaluation of microbiological aerosol samplers: A review. J Aerosol Sci, 1994, 25: 1459–1492
57 Lal H, Punia T, Ghosh B, et al. Comparative study of bioaerosol during monsoon and post-monsoon seasons at four sensitive sites in Delhi region. Int J Adv Earth Environ, 2013, 1: 1–7
58 Xu Z, Yao M. Monitoring of bioaerosol inhalation risks in different environments using a six-stage andersen sampler and the PCR-DGGE method. Environ Monit Assess, 2013, 185: 3993–4003
59 Sánchez-Monedero M A, Stentiford E I. Generation and dispersion of airborne microorganisms from composting facilities. Process Saf Environ Protect, 2003, 81: 166–170
60 Kulkarni P, Baron P A, Sorensen C M, et al. Nonspherical particle measurement: Shape factor, fractals, and fibers. In: Kulkarni P, Baron P A, Willeke K, eds. Aerosol Measurement: Principles, Techniques, and Applications. 3rd ed. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, Inc., 2011
61 Wang Z, Reponen T, Grinshpun S A, et al. Effect of sampling time and air humidity on the bioefficiency of filter samplers for bioaerosol collection. J Aerosol Sci, 2001, 32: 661–674
62 Pasquarella C, Pitzurra O, Savino A. The index of microbial air contamination. J Hosp Infect, 2000, 46: 241–256
63 Mainelis G, Willeke K, Baron P, et al. Electrical charges on airborne microorganisms. J Aerosol Sci, 2001, 32: 1087–1110
64 Jing W, Jiang X, Zhao W, et al. Microfluidic platform for direct capture and analysis of airborne mycobacterium tuberculosis. Anal Chem, 2014, 86: 5815–5821
65 Jiang X, Jing W, Zheng L, et al. A continuous-flow high-throughput microfluidic device for airborne bacteria pcr detection. Lab Chip, 2014, 14: 671–676
66 Jing W, Zhao W, Liu S, et al. Microfluidic device for efficient airborne bacteria capture and enrichment. Anal Chem, 2013, 85: 5255–5262

67 Brock T D. How sensitive is the light microscope for observations on microorganisms in natural habitats? Microbiol Ecol, 1984, 10: 297–300
68 Zare R N. My life with LIF: A personal account of developing laser-induced fluorescence. Annu Rev Anal Chem, 2012, 5: 1–14
69 Nuchtavorn N, Bek F, Macka M, et al. Rapid separations of nile blue stained microorganisms as cationic charged species by chip-CE with LIF. Electrophoresis, 2012, 33: 1421–1426
70 Balsalobre L, Hernandez-Madrid A D, Martin-Galiano A, et al. Molecular characterization of disease-associated streptococci of the mitis group that are optochin susceptible. J Clin Microbiol, 2006, 44: 4163–4171
71 Heidelberg J F, Shahamat M, Levin M, et al. Effect of aerosolization on culturability and viability of gram-negative bacteria. Appl Environ Microbiol, 1997, 63: 3585–3588
72 Kildesø J, Nielsen B H. Exposure assessment of airborne microorganisms by fluorescence microscopy and image processing. Ann Occup Hyg, 1997, 41: 201–216
73 Zeng Q Y, Westermark S O, Rasmuson-Lestander A, et al. Detection and quantification of cladosporium in aerosols by real-time PCR. J Environ Monit, 2006, 8: 153–160
74 Day J P, Kell D B, Griffith G W. Differentiation of phytophthora infestans sporangia from other airborne biological particles by flow cytometry. Appl Environ Microbiol, 2002, 68: 37–45
75 Lange J L, Thorne P S, Lynch N. Application of flow cytometry and fluorescent *in situ* hybridization for assessment of exposures to airborne bacteria. Appl Environ Microbiol, 1997, 63: 1557–1563
76 Yooseph S, Andrewspfannkoch C, Tenney A, et al. A metagenomic framework for the study of airborne microbial communities. PLoS One, 2013, 8: e81862
77 Muyzer G, De Waal E, Uitterlinden A. Profiling of complex microbial population by dgge analysis of polymerase chain reaction amplified genes encoding for 16s rRNA. Appl Environ Microbiol, 1993, 62: 2676–2680
78 Lecours P B, Veillette M, Marsolais D, et al. Characterization of bioaerosols from dairy barns: Reconstructing the puzzle of occupational respiratory diseases by using molecular approaches. Appl Environ Microbiol, 2012, 78: 3242–3248
79 Weiss D J, Lunte C E. Detection of a urinary biomaker for oxidative DNA damage 8-hydroxydeoxyguanosine by capillary electrophoresis with electrochemical detection. Electrophoresis, 2015, 21: 2080–2085
80 Lu S, Li G, Lv Z, et al. Facile and ultrasensitive fluorescence sensor platform for tumor invasive biomaker β-glucuronidase detection and inhibitor evaluation with carbon quantum dots based on inner-filter effect. Biosens Bioelectron, 2016, 85: 358–362

Summary for “室内空气中致病微生物的种类及检测技术概述”

An overview about varieties and detection methods of pathogenic microorganisms in indoor air

Xiaoxu Li[1], Zufeng Weng[2], Aili Cao[2], Qi Liu[1] & Guodong Sui[1*]

[1] *Department of Environmental Science & Engineering, Fudan University, Shanghai 200438, China;*
[2] *Shanghai Pudong New Area Environmental Monitoring Center, Shanghai 200135, China*
* Corresponding author, E-mail: gsui@fudan.edu.cn

Various microorganisms of different size ranges present in air are called bioaerosol which mainly includes fungi and bacteria, their metabolites, virus, pollens, etc. Bioaerosols can travel hundreds of meters or even kilometers through air, so that bioaerosols can be transmitted to all corners of public places, greatly increasing the scope of their hazards. Tiny biological particles can directly reach to human lungs through human respiration, resulting in lung diseases and increasing the risk of suffering from lung related disease.

Diseases caused by pathogenic species are classified as bacterial diseases, fungal diseases, viral diseases and diseases caused by other pathogenic microorganisms. Everyone spends about 90% of their time indoors. Indoor environments with poor air quality are more likely to cause harm to vulnerable groups such as children, adolescents, the elderly, patients with chronic respiratory diseases and patients with cardiovascular diseases than outdoor pollutions. Bioaerosols may cause human health problems, severely resulting in death. In addition, *Candida*, *Aspergillus fumigatus*, *Staphylococcus aureus* and some other pathogenic microorganisms may cause nosocomial infections. The medical equipment and hospital environment are the main sources of these microorganisms. There are many studies on the types of microorganisms in different indoor environments. However, there are few studies on the sources of microorganisms, especially pathogenic microorganisms, in indoor air. Source-sink analysis shows that the outdoor air is the main source of most indoor microorganisms. In addition, indoor factors (such as occupants, pets, moldy substances, ventilation, etc.) also affect the distribution of indoor microorganisms.

Bioaerosol sampling methods are diverse and many methods are still in development. So far, neither a sampling method nor a sampling standard is suitable for collecting various types of airborne microorganisms. Impaction, impingement and filtration are the most common methods for collecting bioaerosols. In addition, the natural sedimentation method, electrostatic precipitation and cyclone are also used to collect bioaerosols. The detection of microorganisms is the second step in bioaerosol monitoring process. Detection methods of microorganisms can be divided into two major categories called culturable approach and nonculturable approach. Culturable approach is a traditional microbiological detection method, which is simple and low cost. The main drawback of the culturable approach is that the proportion of microorganisms that can be cultured and identified in the environment is small (about 10%), so the culturable approach cannot provide information on the total number of microorganisms in the air. With the development of fluorescent dyes, it is possible to quantitate all the microorganisms (including culturable and nonculturable microorganisms) collected in the liquid medium. Advances in genomics and sequencing technologies, as well as advances in nonculturable molecular technologies (such as Genetic Fingerprinting, Metagenomics and Next Generation Sequencing) not only help identify and quantify microbial loads, but also help understand the possible microbial populations changes. In addition, advances in methods such as Chromatography, Immunoassay and PCR are also useful for microorganism identification. Bioaerosol sampling techniques and detection techniques are crucial for assessing bioaerosol levels. Different sampling and detection methods have different advantages and disadvantages, so multiple technologies can be combined to overcome the limitations of each technology.

Through comprehensive and systematic understanding of the types and sources of these pathogenic microorganisms, as well as sampling and detection methods, it will help people to understand the influencing factors of indoor microbial communities, reduce the risk of indoor biological aerosols.

indoor air, bioaerosol, pathogenic microorganism, varieties, sources, detection methods

doi: 10.1360/N972018-00328