

アレルゲン対策内装システムの研究開発（その1）

——画像処理を利用したダニ活動度評価手法の開発とその展開——

岡田 博

(技術研究所)

山口 一

(技術研究所)

竹内 啓五

(設備本部)

富岡 一之

(技術研究所)

§ 1. はじめに

住宅の気密化・断熱化は、温熱環境の向上および省エネルギー上の恩恵をもたらしたが、一方で、換気等適正な運営管理の欠如は、建材等から発生する有害化学物質の濃縮、室内湿度の上昇ならびにダニ・カビ・ハウスダスト等室内生物汚染粒子（アレルゲン）の増加を引き起す原因ともなったと言われ、実際に日本人の約1/3が何らかのアレルギーに悩まされている¹⁾。本研究は、居住空間における快適性を維持したダニアレルゲン等対策内装システムの開発を目的としている。ここでは第一報として、画像処理を利用してダニの活動度を工学的に評価できるシステムを開発した。具体的には、画像処理の原理と応用の可能性についてまず言及し(2.1)、実際にダニの活動を画像処理してその有用性を実験的に証明し(4.1)、各種防ダニ試験法の評価に利用するための検討を画像処理サイドおよび代表的薬剤を用いた防ダニ試験サイドから行った(4.2)。さらに、このダニ活動度評価手法は、種々の相対湿度がダニの生態に及ぼす影響について明らかにすることに応用することも可能であった(4.3)。

§ 2. 画像処理の原理と応用

2.1 画像処理の原理

居住空間での主要なアレルゲンは、体長数百 μm のヒヨウヒダニ類(チリダニ科)であるが、これまで肉眼で観察することがほとんど不可能なこの生物をコントロールすることは非常に困難であった^{2) 3)}。我々は、CCDカメラにより観察したダニの活動映像を処理し、抽出された情報を時間的かつ空間的に平均化することによって、その行動分析および評価が

可能になると想え、人の行動分析用に開発した手法の転用を検討した^{4) 5)}。ここで用いた画像分析の基本原理を図-1に示す。まず、カメラを通して得られた画像に対し加算平均を施すことにより、移動物体の写らない背景画像を作成する。次に、この画像と分析対象の画像との間で差分をとることにより移動物体を抽出した画像を得る。さらに、同差分処理を一定時間行って移動対象を抽出した差分画像をすべて累積加算する。この累積画像により、移動物体の活動の程度を変化領域の累積の程度という形で評価することができる。計算はデジタル画像で行うため、累積の程度の数値表現が可能である。この方法を適用するにあたり、観測対象は活動の目安として移動することが前提となる。ダニは、安定した状況で移動が活発で、その生命力が低下あるいは死滅するにつれ移動する頻度および移動するダニ数が少なくなると考えられるので、観測対象に成りうると考えた。

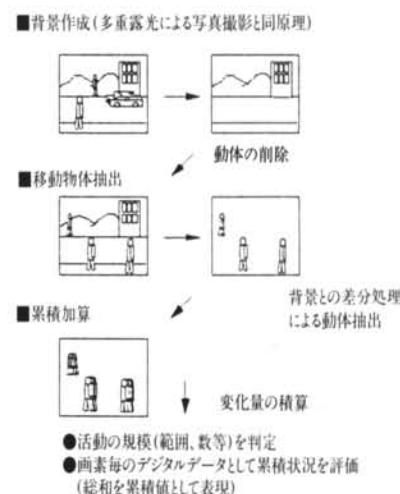


図-1 画像処理の原理

§3. 実験材料ならびに実験方法

3.1 供試ダニと培養条件

3.1.1 供試ダニ

当方で累代培養しているチリダニ (*Pyroglyphidae* 科のヤケヒヨウヒダニ (*Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dp*) とコナヒヨウヒダニ (*Dermatophagoides farinae*, *Df*) を用いた。

3.1.2 供試培地

チリダニの純粋培養には、実験動物用飼料(日本クレア)と乾燥酵母(アサヒビール)を重量比で1:1に混合し、90℃で30分乾熱した後に、予め湿度75%RH前後に調整したインキュベータ内で2、3日加湿したもの用いた。

3.1.3 培養

チリダニの純粋培養は、温度約25℃、湿度75%RH前後に調整したインキュベータ内で静置し、約1週間に一度、換気のために培養瓶の軽い振盪を実施した。植え継ぎは、約2ヶ月間培養したもの用いた。先述の新鮮な培地に重量比で約10%接種した。

3.1.4 ダニ数の測定

MBA法⁶⁾に準じ、チリダニ培養物をメチレンブルー入りの寒天で固定し、実体顕微鏡下でその数を直接カウントした。変更点は、細塵0.1gのところをダニ培養物20mgとし、0.2%SDS溶液2.0mlのところを1.0mlとし、混和液0.5mlのところを全量(1.0ml)流し込んだ後、0.5mlの0.2%SDS溶液で供洗いし、ダニ培養物20mg中の全ダニ量を計測するようにした。

3.2 画像撮影および処理

3.2.1 画像撮影解析システム

図-2に示した画像撮影解析システムを使用した。

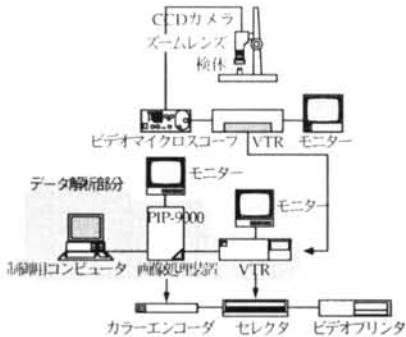


図-2 画像撮影解析システム

ズームレンズ(OVM-120Z, OLYMPUS)を通してCCDカラーカメラで撮影した検体(ダニ活動の様子)の映像は一旦ビデオテープレコーダ(VTR(S-VHS VIDEO CASSETTE RECORDER HR-X3SPT, VICTOR))に記録した。CCDカラーカメラを接続しているビデオマイクロスコープ(OVM1000N, OLYMPUS)の各種設定を予め検討し、本研究に最適な条件に調整した。検体の映像は、VTRからADコンバータを介して画像処理装置(PIP9000, ADS)に入力した。画像処理装置はパソコン(PC9821, NEC)により制御され各種の処理を実施した。

3.2.2 画像処理

画像分析は、背景の作成に20秒、累積処理に40秒、計60秒を1サイクルに設定し、このサイクルを連続して3回繰り返し、全計測時間は3分とした。背景の作成は20秒間に64枚の画像を入力し、その加算平均を行うことにより実施した。累積処理は1/2秒間隔で行い、全計測を通じ累積は約240回程度とした。

3.3 防ダニ試験

3.3.1 アセトン法(残渣接触法)

アセトンを希釈溶液として10mg/mlに濃度調製した薬剤を、5ml容培養瓶(強化硬質自動バイヤル瓶V-5, 日電理化硝子)に添加し、0~1,000mg/m²になるように底面に一様に展開した。また同時にコントロールとして、希釈溶液として使用したアセトンのみを添加したサンプルおよびプランク(アセトン無添加)を用意した。

上記サンプルをドラフターに30分間静置してアセトンを揮発させた後、約2ヶ月間培養した活動度の高い供試ダニの培養物を20mgずつ分注し、透明フィルムで上部に封をした。このサンプルを温度25℃、湿度75%RH前後に調整したインキュベータに入れ、1日後にダニ活動度を撮影するとともに目視観察した。また、実験は5連の系にて実施した。

3.3.2 培地混入法

50ml容プラスチック製遠沈管(CORNING, IWAKI GLASS)に、希釈飼料としてチリダニの純粋培養用培地を入れ、これに所定濃度となるように、薬剤(粒状のものは乳鉢ですり潰す)を添加した。希釈飼料と薬剤を均一に混合させるために、小型回転培養器(ローテーターRT-50, TAITEC)にこの遠沈管をセットし、回転速度約30r/minで一昼夜連続運転して培地と薬剤を混合させた。

薬剤濃度は2% (W/W)を基準濃度として各々2段

階設定し、薬剤無添加のコントロールとしてチリダニの純粋培養用培地を用いて同時に試験した。サンプル瓶はアセトン法と同じ5ml容培養瓶を使用し、濃度調整した薬剤入り培地および約1ヶ月間培養した活動度の高い供試ダニ培養物を計量スプーンすりきり一杯(550mg)ずつ分注し、混合の後、紙栓で封をした。

このサンプルを温度25℃、湿度75%RH前後に調整したインキュベーターに入れ、定期的にダニ活動度を撮影するとともに目視観察した。また、実験は5連の系にて実施した。

3.3.2 振発法

内径17mm(外径20mm)のガラス筒(特注)の底面を200メッシュフィルターで覆い、その上に供試ダニ培養物20mgを添加して上部を透明フィルムで封をした。薬剤は、内径21mm(外径25mm)のガラス容器(特注)に添加し、この容器に先程のガラス筒をはめ込み、約半分の高さで止めた。この準密封系の容積は13mlで、これを温度25℃、湿度75%RH前後に調整したインキュベーターに入れ、定期的にダニ活動度を撮影するとともに目視観察した。また、実験は5連の系にて実施した。

3.4 各種湿度条件におけるダニの培養

3.4.1 所定湿度におけるダニ培養容器

5ml容培養瓶に紙栓で封をしたものを使用した。

3.4.2 湿度の調整

温度は、ダニ培養容器を収納した試験槽を恒温槽(インキュベーター(冷凍機付)MIR-553 SANYO)内に静置して25℃に保持した。また、ダニ培養容器を収納した試験槽内の湿度は、塩類飽和溶液調湿法

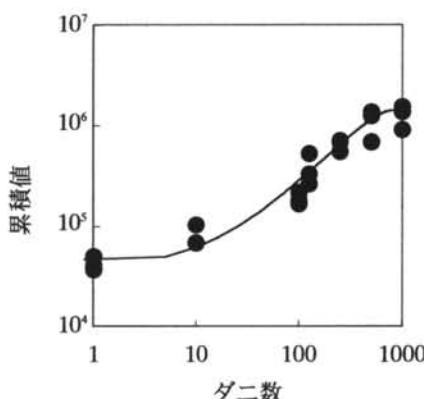


図-3 ダニ数と画像解析値(累積値)の相関

(常圧下)⁷⁾により調整した。この方法は、試料の吸脱湿による湿度の変化が少なく、容器全体の温度の変化に対しての相対湿度の変化がわずかであるという利点があった。

3.4.3 湿湿度のモニタリング

所定の温湿度に試験槽内が保持されていることを確認するため、各試験槽内に温湿度センサー(CHS-ATSおよびCHS-APS、TDK)を設置し、バッファー(BUFFER AMP、スギヤマゲン)を通してデータロガー(打点式ハイブリッド記録計AA030-NGN、チノー)に出力してモニタリングした。

§4 実験結果ならびに考察

4.1 ダニ数およびダニ密度と画像解析値(累積値)

人の行動分析用に開発した画像処理手法は、本研究の対象生物であるダニの活動度評価にも適用が可能であると考えられた。ここでは、ダニの活動を捉えた映像を処理して求めた画像解析値(累積値)および撮影に供したサンプルのダニ数あるいはダニ密度との間の相関関係を実験的に導いた。

4.1.1 ダニ数と画像解析値の相関⁸⁾

画像解析によって、チリダニ数の把握が可能かどうかの検討を行った。ここでは、長期培養した活動度の高い純粋ダニを用いた検討した。具体的には、約3ヶ月間培養したDpを新鮮な培地で段階的に希釈し、培地中に含まれるダニ数を調整した。このダニ培養物20mgを5ml容培養瓶に分注し、CCDカラーカメラで上部よりダニの活動を撮影し、その映像を画像解析処理した。また、実験は3連の系にて実施した。

図-3にNegative Control(培地のみ), 1,000倍, 100倍, 10倍, 8倍, 4倍, 2倍および元培養物(1倍)の各希釈段階のサンプルについて画像処理した結果を示した。MBA法を用いた直接カウント法による換算から、各サンプル中のダニ数は、0匹, 1匹, 10匹, 100匹, 125匹, 250匹, 500匹および1,000匹であった。図中の実線は3次多項式近似により求めた相関式を表した曲線で、R²値も0.8993となり、高い相関関係が確認され、画像解析によりダニ数の代替測定が可能となった。

また、無希釈のダニ培養物を用いて、5ml容培養瓶中に含まれるサンプル量を段階的に増加した系(20mg, 40mg, 60mg, 80mg, 100mgおよび120mg)について同様に処理したが、この場合、サンプル量の

増加について画像解析値の減少が確認された（データ未提示）。これは、サンプル量の増加に伴ってバックグラウンド（ここでは、ダニと培地が存在しない基本的に黒色の背景）の比率が減少するためであると考えられた。

4.1.2 ダニ密度と画像解析値の相関

画像解析によってチリダニの密度が把握できるかどうかの検討を行った。供試ダニの調製は、先述のダニ数と画像解析値（累積値）の相関実験と同様に行い、培地中のダニ（ D_p ）密度を調整した。このダニ培養物825mgを5ml容培養瓶に分注し、3連の系にて、撮影および画像解析処理を実施した。

図-4に、Negative Control（0匹/1g培養物）、50匹/1g培養物、500匹/1g培養物、5,000匹/1g培養物、6,250匹/1g培養物、12,500匹/1g培養物、25,000匹/1g培養物および50,000匹/1g培養物となるようにダニ密度を調整した各サンプルの映像を処理した結果を示した。この系の実験においては、画像処理の際のバックグラウンドとなる培地の中にダニが埋もれて、コントラストが弱いため（ダニと培地の色は同系色）、先述のダニ数と画像解析値の相関実験に比べて相対的に画像解析値が小さくなる傾向にあった。しかし、逆に個々のバラつきの度合も減少し、 R^2 値は0.9853と非常に高い相関性を示し、画像解析によりダニ密度の代替測定が可能になった。

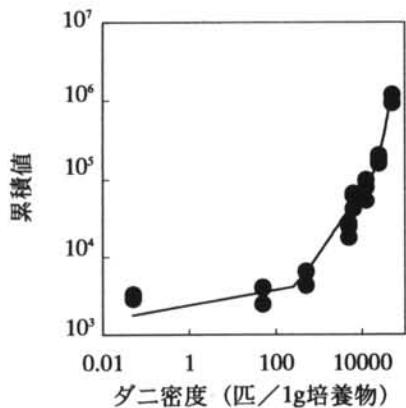


図-4 ダニ密度と画像解析値（累積値）の相関

4.2 防ダニ試験への展開

活動度の高いダニを用いた実験において、その数あるいは密度を、活動の様子を捉えた映像を処理して求めた画像解析値（累積値）から把握することが可能であった。ここでは、この画像処理システムを各種

の防ダニ試験に展開応用することを試みた。試料の防ダニ効果の違いにより、所定時間接触後の生存ダニ数（あるいは密度）および活動度に違いを生じるため、活動の様子を撮影した映像の処理によって得た画像解析値（累積値）が防ダニ効果の性能評価に利用できると考えた。

4.2.1 各種防ダニ試験での画像処理評価⁹⁾

試料中のアセトン溶解成分の残渣が持つ殺ダニ性能を評価する「アセトン法（残渣接触法）」、試料を碎片に粉碎してダニ培養物と混合してその殺ダニおよび増殖抑制性能を評価する「培地混入法」、ならびに試料から揮散される成分の殺ダニ性能を評価する「揮発法」の3種の防ダニ試験法において画像解析手法の利用を検討した。アセトン法および揮発法については4.1.1の応用、培地混入法については4.1.2の応用であり、ここでは防ダニ試験法を画像処理に組み込むための実験系の検討と、得られた画像解析値（累積値）を防ダニ性能評価に適用するための画像処理側の検討を実施した。

4.1の手法に準じ、数カ月培養したダニ（ D_p ）培養物を新鮮な培地で段階的に希釈し、培地中のダニ数あるいはダニ密度を調製した。

以下に、各種防ダニ試験法の系にて測定したダニ数（ダニ密度）と画像解析値（累積値）の関係を、3次多項式近似によってその相関性を確認した結果を示す。

アセトン法（残渣接触法）：

$$y = -10^{-10}x^3 + 3 \times 10^{-10}x^2 + 0.0004x - 15.831$$

$$R^2 = 0.8015$$

培地混入法：

$$y = 2 \times 10^{-15}x^3 - 3 \times 10^{-9}x^2 + 0.0018x - 5.8459$$

$$R^2 = 0.9867$$

揮発法：

$$y = 2 \times 10^{-14}x^3 - 2 \times 10^{-9}x^2 + 0.0035x + 18.382$$

$$R^2 = 0.9296$$

x：画像解析値（累積値）

y：ダニ数（培地混入法においてはダニ密度）

画像処理サイドから考察すると、アセトン法および揮発法に比べて培地混入法は高い信頼度を得た（ R^2 値が高かった）。これは、供試ダニ量が多く、サンプル毎の条件を均一化しやすいうこと、背景がダニ培養物で画面全体が一様であることによると思われた。また、画像解析値（累積値）としてアセトン法は揮発法に比べて総じて高い値を得たが、これは背景が揮発法が白色に対してアセトン法が黒色であり、

コントラストによる感度の上昇によるものと考えられた。しかし逆に生存ダニ0匹のネガティブコントロールについては、揮発法が0に近い値になっているのに対し、アセトン法は10,000のオーダーで、感度が良い分ノイズを拾ってきてしまっていた。バックグラウンドノイズについては、ダニが不活性で0匹のサンプルを処理しても、得られる画像解析値（累積値）は0とはならず、アセトン法について10,000のオーダー（32,498, 36,198, 44,379）、培地混入法について1,000のオーダー（7,727, 4,187, 4,524）、揮発法について1~100（8, 208, 34）のオーダーとなつた。画像解析値（累積値）を0に近づけるには、処理上の走査線のレベル等を操作、即ち画像認識ハードおよびソフトの改良によってある程度可能になると考えられた。しかし、各種試験法のネガティブコントロールの画像解析値（累積値）のオーダーの違いを考慮すると、この検討は逆に感度の低下を伴う危険性を孕んでいたため、非効率的であると判断した。ここで、先に求めた相関式に各種防ダニ試験法にて強い防ダニ性を示した場合に予想される画像解析値（累積値）（アセトン法：30,000~50,000、培地混入法：2,000~8,000、揮発法：0~400）を代入して換算匹数を求めると、アセトン法および培地混入法で0近傍となり、問題ないと判断した。また揮発法については18.4匹前後となつたが、防ダニ性を全く示さない（ダニへの影響が全くない）場合に予想される画像解析値（累積値）から算出した換算匹数（約600匹）と先のネガティブコントロールの値（約18.4匹）で求めた防ダニ性能評価値（阻害率%；後述）を求めるとき、約97%となり、揮発法においてもバックグラウンド

ノイズによる誤差は影響が少ないと考えた。更に、画像処理時に影響を受けると考えられるダニ挙動の撮影条件（色温度、自動感度、明度およびランプ電圧）についても一定値に設定してロット等による画像解析値（累積値）の変化を極力抑えることで、バックグラウンドノイズの影響を最終的には無視できると考えた。

総じて細部に若干の検討の余地がのこるもの、 R^2 値が0.8015~0.9867と高くなり、3手法とも画像解析値（累積値）とチリダニ数（密度）の高い相関性が確認できた。

4.2.2 代表的防虫剤の防ダニ性能評価

各種防ダニ試験の系にて、活動度の高い供試ダニの数（密度）と画像解析値（累積値）の間には高い相関性が確認され、防ダニ試験への利用の可能性が示唆された。実際の防ダニ試験においては、試料の防ダニ効果によって、死滅によるダニ数（密度）の減少とともにダニ個体の活動度（活性）の衰退が観察される予想される。ところが、ダニ個体の活動度を意図的に段階的に設定することが事实上不可能であるため、ここでは既往研究にてその効果が明らかにされている防虫剤を含む代表的な薬剤を選定し、本研究用に改良した先述の防ダニ試験（供試ダニはDp）を実施し、画像処理適用の有効性を確認することとした。

表-1に防ダニ試験結果を示す。ここでは、有機リン系、ビレスロイド系および芳香族系等の薬剤を中心として実験に供した。

まず、代表的防虫剤に関して結果を見ると、標準品を用いたアセトン法については、同じ有機リン系防虫剤においても効力に違いがあり、100mg/m²におい

No.	化合物系統	薬剤名	主成分	濃度 (%)	形状	アセトン法		培地混入法(w/w)			揮発法	
						100mg/m ²	0.01%	0.10%	1%	10%	1ml / 13ml	
						111	—	—	1カ月	—	111	
薬剤\防ダニ性												
1	有機リン	ダイアジノン粒剤	ダイアジノン	3.0	粒	15.4	30.0	100.0	—**	—	92.3	
2	有機リン	スミチオン水和剤フェニトロチオン	40.0	粉	—	—	98.9	100.0	—	—	94.1	
3	有機リン	バイジット粒剤2DL フェンチオン	2.0	粉	—	—	100.0	100.0	—	—	87.5	
4	有機リン	MEP Standard フェニトロチオン	98.0	液	69.7	—	—	—	—	—	—	
5	有機リン	MEP Standard フェンチオン	98.0	液	100.0	—	—	—	—	—	—	
6	有機リン	Diazinon Standard ダイアジノン	99.0	液	97.7	—	—	—	—	—	—	
7	ビレスロイド	アディオン水和剤 ヘルメトリシ	20.0	粉	—	—	100.0	100.0	—	—	95.3	
8	芳香族	安息香酸	99.5	粉	89.7	—	—	28.8	99.8	—	35.7	
9	芳香族	サリチル酸	99.5	粉	10.9	—	—	83.3	99.8	—	25.5	
10	塩素化芳香族	p-ジクロロベンゼン	98.0	粉	26.0	—	—	9.8	100.0	—	94.7	
11	芳香族	デヒドロ酢酸	98.0	粉	100.0	—	—	100.0	100.0	—	94.7	
12	芳香族	ナフタレン	99.0	粉	3.7	—	—	97.5	100.0	—	94.7	
13	塩素化芳香族	p-クロロ安息香酸	99.0	粉	27.2	—	—	0.0	57.5	—	75.2	
14		ほう酸	99.5	粉	0.0	—	—	44.1	99.0	—	0.0	

* 阻害率(%) = 100 - 薬剤存在下の換算ダニ数/コントロールでの換算ダニ数 × 100

** 未試験

表-1 代表的防虫剤の防ダニ性能評価

てMPP(フェンチオン) > Diazinon(ダイアジノン) > MEP(フェニトロチオン)の順となり、MPPについては $10\text{mg}/\text{m}^2$ においても阻害率91.5%と有効な防ダニ効果を発揮した。培地混入法については、ダイアジノン0.01%を除いてほとんどのサンプルにて4週間後の阻害率がほぼ100%と高い防ダニ効果を示したが、アディオン水和剤(ペルメトリリン)およびスミチオン水和剤(フェニトロチオン)の低濃度側(0.1%)条件において効果が遅延的(1,2週間後は防ダニ効果が低い;データ未提示)であった。斯くして培地混入法における防ダニ効果は、ダイアジノン粒剤(ダイアジノン) > バイジット粒剤2DL(フェンチオン) > スミチオン水和剤(フェニトロチオン) > アディオン水和剤(ペルメトリリン)の順となった。揮発法については、いずれの薬剤も1日後の観察で、阻害率87.5~95.3%と高い防ダニ効果を示した。

ここで、中島ら¹⁰⁾は、コナヒヨウヒダニ(Df)に対してフェンチオン、フェニトロチオンおよびペルメトリリンの殺ダニ効力を残渣接触法(クリップ法)および培地混入法(角滌紙法)を用いて評価している。その結果、残渣接触法ではフェンチオン>フェニトロチオン>ペルメトリリン、培地混入法ではペルメトリリン>フェニトロチオン>フェンチオンとなり、異なる試験法による効力順位の違いから、単一の試験方法のみで薬剤の効力を評価することの危険性を指摘している。供試ダニおよび試験法の違いから単純に比較はできないものの、我々の試験結果と比較して残渣接触法は同傾向、培地混入法は異なる結果となつた。また、我々の他の実験結果(データ未提示)も統合して考慮すると、異種試験法で同様の高い効果を示す薬剤が存在する一方で、ある試験法においては高い効果を示すものの他の試験法においては全く効果を示さない薬剤も多々存在していた。防ダニ試験の適用については、各種試験法の特性を理解した上で、経時変化(持続性等)も含めて評価することが必要であると考えられる。

また、芳香族系等の薬剤については、最も防ダニ性に優れたものはナフタレンおよびデヒドロ酢酸で、3手法で効果が確認された。p-ジクロロベンゼンについては培地混入法で高濃度側(10%)および揮発法で効果が確認されたが、アセトン法では高濃度($1,000\text{mg}/\text{m}^2$)でも全く殺ダニ性を示さなかつた(データ未提示)。30分のアセトン揮発時にp-ジクロロベンゼンのもつ有効殺ダニ成分が揮散してしまつたためと考えられる。安息香酸については、培地混入

法高濃度側(10%)およびアセトン法($100\text{mg}/\text{m}^2$)で効果が確認された。揮散成分による殺ダニ効果は殆どないものの、安息香酸の粉剤およびアセトン溶解成分残渣は一定レベルの殺ダニ性を保持していると考えられる。さらに、サリチル酸では培地混入法で低濃度側(1%)でも効果を示したが、遅延的(2週間後に顯著)であった。ほう酸については培地混入法の高濃度側のみで効果が確認され、p-クロロ安息香酸についてはいずれの手法に対しても効果が確認できなかつた。

ここで、横井ら¹¹⁾は、コナヒヨウヒダニ(Df)およびケナガコナダニに対するナフタリン、p-ジクロロベンゼンおよびほう酸の増殖抑制効果を培地混入法により調べている。それによると、コナヒヨウヒダニに対しては、ナフタリンは1.0%で、p-ジクロロベンゼンは0.5%で速効的な効果を示し、ほう酸は1.0%で長期的な増殖抑制効果を認めた。我々の実験においては、ヤケヒヨウヒダニ(Dp)をターゲットとしており一概に比較はできないものの、ナフタレンの傾向は同じであったが、p-ジクロロベンゼンについては1%では4週間接触させても効果が現れず、10%にて1週目に阻害率100%となり比較的早期に効果が現れる等異なる傾向を示した。ほう酸については1.0%では4週間後も防ダニ効果は僅か(阻害率44.1%)で、10%では2週間後に阻害率95.3%と高い防ダニ性を示し、やはり若干異なる傾向を示した。

さらにここで、目視による観察結果と画像処理により算定した阻害率(%)の関係は、3種の防ダニ試験法全般に見受けられる傾向として、阻害率90%以上においては、活動しているダニはほとんど観察されないか皆無でその活動度(活性)も非常に衰弱していた。阻害率60~90%の範囲では活動しているダニの数が少ないかあるいは活動度がやや鈍化していた。一方、阻害率50%以下の範囲では目視での違いの判別は不可能だったため、ダニに対する微妙な効果の評価に、本手法の有効性が示唆されたと考えた。

4.3 ダニの増殖ならびに活動に与える湿度の影響

生態学的研究から、家屋内に生息するダニの繁殖条件として、潜入場所の存在、ダニの食性の存在および適正範囲の温湿度環境が挙げられている¹²⁾。また、昆虫学的研究から、ダニは至適生育条件においては、卵から成虫までのサイクルが約30~40日で、そのサイクルは至適温度範囲内では、温度が高くなると短くなり、低くなると長くなる¹³⁾。湿度に関し

ては、至適条件から外れると長くなる。寿命は約2カ月であるが、メスの方が少し長く生存し、特に無交尾メスでは約4カ月になる。松本ら¹⁴⁾は、ヒヨウヒダニが卵を1日に1~2個産み出し、生涯で約80個の産卵をすることを報告している。成虫は体長が約0.3~0.4mmであり、1分間に約14mmの速さで移動する。酸素消費量は1時間に約0.01 μ lであり、8割のダニは5日間の絶食に耐える。

ダニの形態的・生理学的特徴として、相対的に身体の表面積が大きく、クチクラ層が未発達なため、体内の水分が失わされやすい構造になっていることがわかっている。従って、ダニ生育環境条件に関しては、湿度条件が最も重要であると考えられる。既往の培養実験から、Dpは25℃の時相対湿度73~76%RH、培地の水分含量16%が最適条件であり、Dfに関してはそれぞれ60~70%, 12%であるとされている。

先述の実験においては、画像処理を利用した防ダニ効果のある薬剤の選定が可能になった。室内アレルゲンを低減するには、薬剤の使用が一つの有効な手段であるが、住まい手の健康や安全性、効果の持続性と経済性、ならびにアレルゲン発生以前の抑制効果等を考慮すると、温湿度等の環境条件を制御することも有効であると考えられた。そこでここではまず、温度25℃における各種湿度条件を設定し、その雰囲気でダニを培養し、活動や増殖にどのような影響を及ぼされるかを検討した^{15) 16)}。

4.3.1 Dpの増殖におよぼす湿度の影響

図-5に定期的に測定したダニ活動度を表す画像解析値（累積値）から相関式（4.2.1で求めた培地混入法の系における相関式を使用）を用いてダニ密度

に換算し、統計処理（トンブソンの棄却検定(90%信頼区間)）を用いてデータのばらつきを補正した結果を示す。ここでは、累代培養した純粋Dp培養物を新鮮な培地で約10倍に希釈してその増殖を様子をみた。即ち、12gの培地にDpの3カ月培養物1.2gを添加し、この混合物550mgを5ml容培養瓶に添加して紙栓にて封をした。この実験では、61%RH以上の4種（61%RH, 75%RH, 83%RHおよび93%RH）の培養条件においてDpの増殖が観察された。この中でも特に増殖が促進され、高いダニ換算匹数を得たのは、75%RHおよび83%RHであり、25℃におけるDpの至適増殖湿度は、80%RH近傍にあると考えられた。また、93%RHにおいては、培養3週間目に培地内にカビの発生が観察され、カビの増殖とダニの増殖が拮抗し、ダニの増殖は抑制される傾向にあった。このカビは、形態学的な特徴からAspergillus属と思われた。ここで、増殖数は多少抑えられるが、生存ダニ個体の活動は活発であった。52%RH以下の低湿度条件（36%RH, 46%RHおよび52%RH）では、Dpは増殖せず、実験開始時の活動度が徐々に低下し、目視による観察では、3~5週間後には活動しているダニが全く存在しなくなった。更に、83%RH以上の高湿度条件では、培地そのものが水分を吸着して團塊状になった。

4.3.2 Dpの活動におよぼす湿度の影響

累代培養した純粋Dpの3カ月培養物をそのまま実験に供した。この培養物には、過去の実験結果から培地1g当たり約30,000~50,000匹のダニが含まれ、累代培養に使用している系におけるダニ密度がほぼ最大に達していると考えられる。図-6に定期的に測

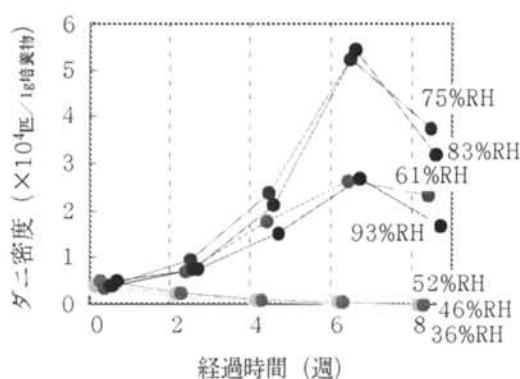


図-5 Dpの増殖におよぼす湿度の影響

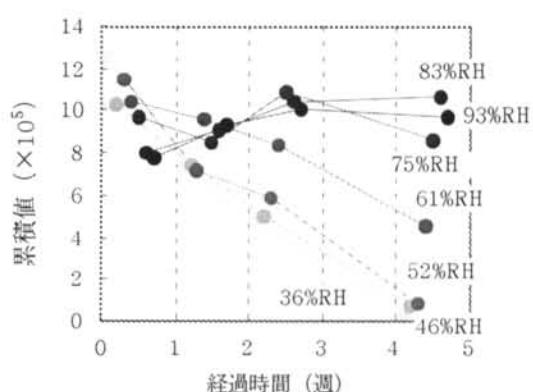


図-6 Dpの活動におよぼす湿度の影響

定したダニ活動度を表す画像解析値(累積値)の統計処理後の結果を示す。この実験においては、75%RH以上の高湿度条件において、ダニ活動度が一定レベルに推移した。この中で、93%RHについては、4週間目にカビの発生が確認され、培地の團塊化と併せて5週間目に活動度が大幅に減少した(データ一部未提示)。52%RH以下の低湿度条件では、ダニ活動度を示す画像解析値は直線的に減少し、4週間目に0近傍に達した。61%RHでは、ダニはその活動度を維持することができず、緩やかに画像解析値が減少した。

4.3.3 Dfの増殖における湿度の影響

D_p と同様にして、相対湿度の違いがダニ増殖に与える影響について調べた。ここで用いた相関式は、4.2.1と同様にしてDfについて新たに求めた以下の式とした。

培地混入法 (Df) :

$$y = 2 \times 10^{-16}x^3 - 4 \times 10^{-10}x^2 + 0.0006x + 14.998$$

$$R^2 = 0.9558$$

x ; 画像解析値(累積値)

y ; ダニ密度

図-7に結果を示す。61%RH以上の4種(61%RH, 75%RH, 83%RHおよび93%RH)の培養条件においてDfの増殖が観察された。また、増殖の程度は、75%RH > 83%RH > 61%RH > 93%RHの順で、93%RHにおいては培養2週間にカビの発生が観察された。52%RH以下の低湿度条件ではDfは増殖せず、36%RHおよび46%RHにおいては3週間に早くも目視観察で活動しているダニが存在しなくなった。ところが、52%RHについては同様にダニ密度が増加しないが、実験開始時の低いレベルが維持され、ほぼ一

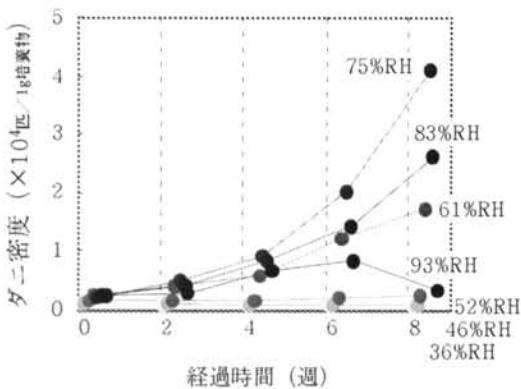


図-7 Dfの増殖における湿度の影響

定量で推移した。

さらにここで、8週間後、75%RHに設定した試験槽に75%RH以下の条件で培養してきたサンプルを移動し、約1カ月間培養して経過をみた(データ未提示)。その結果、36%RHおよび46%RHのサンプルについては、ダニが不動であった。一方、52%RHのサンプルについては、ダニ密度が大幅に増加し、活発な活動を続けていた。61%RHのサンプルについては更に増加していたが、75%RHのサンプルについては既に8週間でダニ密度が最大に達していたとみられ、12週間後ではその活動度も極端に減少していた。

4.3.4 Dfの活動における湿度の影響

D_p と同様にして、相対湿度の違いがダニ活動に与える影響について調べた。図-8に結果を示す。75%RHおよび83%RHにおいてダニ活動度は実験開始時よりも上昇し、4週目および3週目に最大に達した後、若干減少した。これは、添加時のダニ密度が試験瓶の容量に対して飽和していないかったためと考えられる。61%RHおよび93%RHについては、4週目および3週目まで活動度は一定レベルに推移するが、それ以降激減し、低レベルに維持された(データ一部未提示)。尚、93%RHについては培養2週目にカビの発生が観察された。52%RH以下の低湿度条件ではダニ活動度は比較的早期に減少し、特に36%RHおよび46%RHにおいては実験開始直後から減少し始め、3週目においては目視による観察で、活動しているダニが存在しなかった。52%RHにおいては3週目に激減の後、徐々に0近傍に近づいていく。ここでさらに6週間後、75%RHに設定した試験槽に75%RH以下の条件で培養してきたサンプルを移動し、6週間培養し

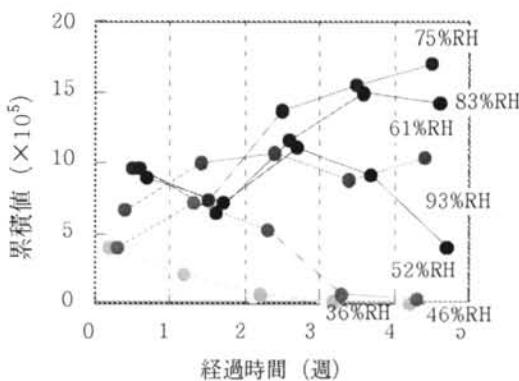


図-8 Dfの活動における湿度の影響

て経過をみた(データ未提示)。その結果、52%RH以下のサンプルについては、ダニ活動度が回復し、目視による観察で数10匹程度のダニが元気に活動していた。この回復度は52%RH > 46%RH > 36%RHの順であった。一方、61%RHのサンプルについてはダニ活動度がほぼ一定レベルに保持されていたが、75%RHのサンプルについては大幅に減少していた。

4.3.5 湿度環境に対するダニの生態

ここでは、温度25°Cにおける種々の相対湿度条件(36%RH, 46%RH, 52%RH, 61%RH, 75%RH, 83%RHおよび93%RH)がダニの増殖ならびにその活動におよぼす影響について検討した。その結果、*Dp*および*Df*の増殖抑制ならびに活動抑制に顕著な効果を示す湿度条件は、52%RH以下の低湿条件で、これらの条件下においてはいずれのダニの活動度やダニ数も最終的に0になるか非常に低いレベルに維持された。また、増殖や活動パターンにダニ種間の相違が存在し、*Df*が*Dp*に比べて若干低湿度側を好み、耐乾性に優れていることが示唆され、既往研究^{14) 17)}と同様の結果を得た。

さらに、93%RH条件下においては、いずれの実験ロットにおいても培養開始数週間で*Aspergillus*属と思われるカビの発生が確認され、以降はダニとカビの増殖が拮抗し、結果としてダニ密度の増加が抑制される傾向にあった。ダニとカビの関連については、ダニの消化管から種々のハウスダスト由来の有機物に混じって微生物の菌糸と胞子、細菌等が発見されているので、ダニがカビを食していることは間違いない。カビの存在がダニの増殖を増長するという説もあるが、過度のカビの生育は逆にマイナスの作用をするとの報告もある。現在の研究技術レベルでは無菌的にダニを培養することが専門家でも不可能であるため、ダニの増殖や活動に及ぼすカビの生理・生態学的な影響・関連については、明確な回答が出ていないのが現状である。

昆虫学的生理学的観点からは、ダニを個体レベルで捉え、種々の温湿度条件がおよぼす影響を、発育段階別(卵、幼虫、若虫および成虫)や性別(雄・雌)で検討したもの、産卵率(能力)、孵化率、寿命および死亡率(致死率)視点から検討した報告等がなされている^{14) 18) ~ 20)}。一方で、疫学的観点からは、住宅内屋内塵中のダニ発生状況の計測と室内温湿度の実測を併せて調査した報告もある¹⁰⁾。我々は、ラボスケール実験において、人工的に温湿度条件のみを制御して、その活動ならびに増殖におよぼす各種湿

度条件の影響を調べ、画像処理分析を利用して種間の違いやダニ密度あるいはダニ活動度の経時変化を捉えることができた。

§5. おわりに

我々は、居住空間の快適性を維持したアレルゲン対策内装システムの開発を目指している。本報では、実験室および居住空間におけるターゲットのヒヨウヒダニ類(チリダニ科)のより効率的な制御および取り扱いを目的として、画像処理の利用を検討した。その結果、以下に示す事項が明らかになった。

1) 活動度(活性)の高いダニの映像を処理した画像解析値(累積値)とダニ数およびダニ密度の間に高い相関性を見出した。

2) 3種の防ダニ試験の評価に画像処理を使用し、既往研究および目視観察等との比較から、その有用性を明らかにした。この際、画像解析値の利用は、ダニに対する微妙な影響を評価する感度よい手法であった。

3) 各種湿度条件における培養ダニの映像を処理し、その増殖および活動に与える湿度環境要因の影響やダニ種間の違いを明らかにした。

従来の防ダニ試験は、ダニ個体を対象とし、実体顕微鏡を通して直接その数をカウントしたり、昆虫針で個体を刺激して生死を判定する等、専門的な技術および労力と時間を要した。ここで開発した手法は基本的にダニ培養物を対象としているので、ダニと供試培地を分離する必要がなく、一時に多数のサンプルを処理することも可能になった。さらに、厳密な意味での生死判定はできないものの、ダニの活動度(活性)を感度よく評価することができた。3種の防ダニ試験への適用が可能になったこと考え併せると、防ダニ性能の総合的な評価が可能になったといえる。

この画像処理を利用したダニ活動度評価手法は、今後、企画・設計、施工時の健康を配慮した建屋の建材、部材、設備、構工法等の開発あるいは選択への展開を可能とするものであり、アレルゲン対策内装システム構築のための第一段階であるが、当該内装システム実現のための有力な必須技術である。

謝 辞

本報告は、通商産業省「生活価値創造住宅開発プロジェクト」の「健康配慮技術の研究・開発に関する研究」平成8年度研究成果の一部である。

<参考文献>

- 1) 高岡正敏：“ダニ、室内塵の傾向とその対策”, MEDICAMENT NEWS, No.1458, pp.16 ~ 17. (1994)
- 2) Okada,H., Yamaguchi,M., Minami,K.: “Detection and Monitoring of Dust Mite”, Proceedings of the 12th International Symposium on Contamination Control in Yokohama, pp.315 ~ 318. (1994)
- 3) Yamaguchi,M., Okada,H., Tomioka,K., Minami,K.: “Monitoring of Dust Mite”, Proceedings of the 7th International Conference on Indoor Air Quality and Climate in Nagoya, pp.687 ~ 692. (1996)
- 4) 竹内啓五,長田耕治：“画像を利用した群集行動評価法に関する研究”, 清水建設研究報告, Vol. 60, pp.123 ~ 131. (1994)
- 5) 竹内啓五,山口一,岡田博,富岡一之：“快適環境分析のための微小生物モニタに関する研究”, 日本建築学会学術講演梗概集 D 41361, pp.721 ~ 722. (1996)
- 6) 高岡正敏,山本徳栄,浦辺研一,中澤清明,久米井晃子,中山秀夫,桜井美佐：“室内塵からの簡便ダニ検査法について”, 埼玉県衛生研究所報, No.1458, pp.64 ~ 69. (1990)
- 7) 高分子と吸湿委員会,高分子学会：“材料と水分ハンドブック（吸湿・防湿・調湿・乾燥）”, 共立出版, (1968)
- 8) 山口一,竹内啓五,岡田博,富岡一之：“画像処理によるダニアレルゲン同定評価システムの開発”, 空気調和・衛生工学会学術講演会講演論文集, pp.969 ~ 972. (1996)
- 9) 山口一,岡田博,富岡一之：“ダニアレルゲン画像処理システムの確立 I—画像処理システムのレベルアップ—”, 日本建築学会学術講演梗概集, 投稿中 (1997)
- 10) 中島芳明,今井長下兵衛,夏原由博：“室内塵性コナヒヨウヒダニ *Dermatophagoides farinae*に対する fenthion,fenitrothion および permethrin の殺ダニ効力の実験室内評価”, 生活衛生, No.34, pp.163 ~ 168. (1990)
- 11) 横井寛昭,堀義宏：“コナヒヨウヒダニおよびケナガコナダニに対するナフタリン,p-ジクロロベンゼンおよびホウ酸の増殖抑制効果”, 名古屋市衛生研究所報, No.39, pp.27 ~ 29. (1993)
- 12) 吉川翠：“家屋内生息性ダニ類の生態および防除に関する研究(7)”, 家屋害虫, Vol.16, No.2, pp.71 ~ 82. (1994)
- 13) G.W.Wharton, Journal of Medical Entomology, No.12, pp.577 ~ 621. (1976)
- 14) 松本克彦,岡本雅子,和田芳武：“コナヒヨウヒダニ,ヤケヒヨウヒダニの生活史におよぼす湿度の影響”, 卫生動物, Vol.37, No.1, pp.79 ~ 90. (1986)
- 15) 岡田博,山口一,富岡一之：“ダニアレルゲン画像処理システムの確立 II—ヒヨウヒダニの増殖及び活動に与える湿度及び木ムク材の影響—”, 日本建築学会学術講演梗概集, 投稿中 (1997)
- 16) 山口一,岡田博,富岡一之：“画像処理によるダニアレルゲン同定評価システムの開発 II”, 空気調和・衛生工学会学術講演会講演論文集, 投稿中 (1997)
- 17) 橋本知幸,田中生男,上村清：“コナヒヨウヒダニ,ヤケヒヨウヒダニの出現パターンに及ぼす温湿度の影響”, 卫生動物, Vol.44, No.3, pp.185 ~ 195. (1993)
- 18) FAROUK M. GAMAL-EDDIN ,FIKRY M. ABOU-SENNA,SAMY E. TAYEL,AMAL M. SEIF : “Longevity of Adult Mites in the Laboratory as Determinant Factor in Indicating the Peaks of Environment Pollution with House Dust Mite Allergens”, Journal of the Egyptian Society of Parasitology, Vol.13, No.1, pp.31 ~ 41. (1983)
- 19) Robert L. Brandt ,Larry G. Arlian : “Mortality of House Dust Mites, *Dermatophagoides farinae* and *D. pteronyssinus*, Exposed to Dehydrating Conditions or Selected Pesticides”, Journal of Medical Entomology, Vol.13, No.3, pp.327 ~ 331. (1976)
- 20) Manabu SASA ,Junko MIYAMOTO,Shigefusa SHINOHARA,Hiroshi SUZUKI,Aritsune KATSUHATA : “Studies on Mass Culture and Isolation of *Dermatophagoides farinae* and Some Other Mites Associated with House Dust and Stored Food”, Japanese Journal of Experimental Medicine, Vol.40, No.5, pp.367 ~ 382. (1970)