

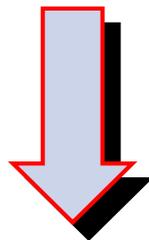
微生物の全自動計測 と マーケティング動向

マイクロバイオ株式会社
小川 廣幸

微生物 検査 の 目的

定性試験
(陰性試験)

生菌 が いないこと を 確認 する



培養 試験 しても

何も 起きません

どうすれば

自動計測

できるのでしょうか？

やはり、装置が必要です

必要な装置は。。。

マイクロコロニー法装置

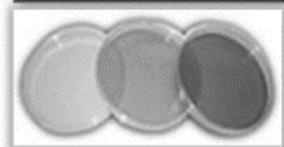
(タイムラプス**映像解析**に基づく)

※ **マイクロコロニー法**は
薬品医療機器総合機構 (PMDA) が
指定・分類する迅速法で、
マイクロコロニーの **増殖能** を確認して
検出・計数 する方法です。

公定法
従来 培養法

目視検査

使い捨て
寒天培地

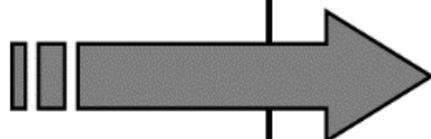


(センサー)

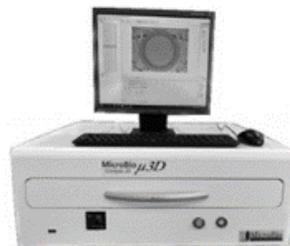
○**確実な生菌検出**

X**手作業でたいへん**

X**コロニー検出が遅い**



全自動 迅速 微生物 検出装置
(タイムラプス映像解析)



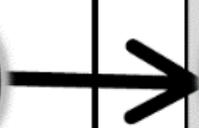
公定法

全自動

○**確実な生菌検出**

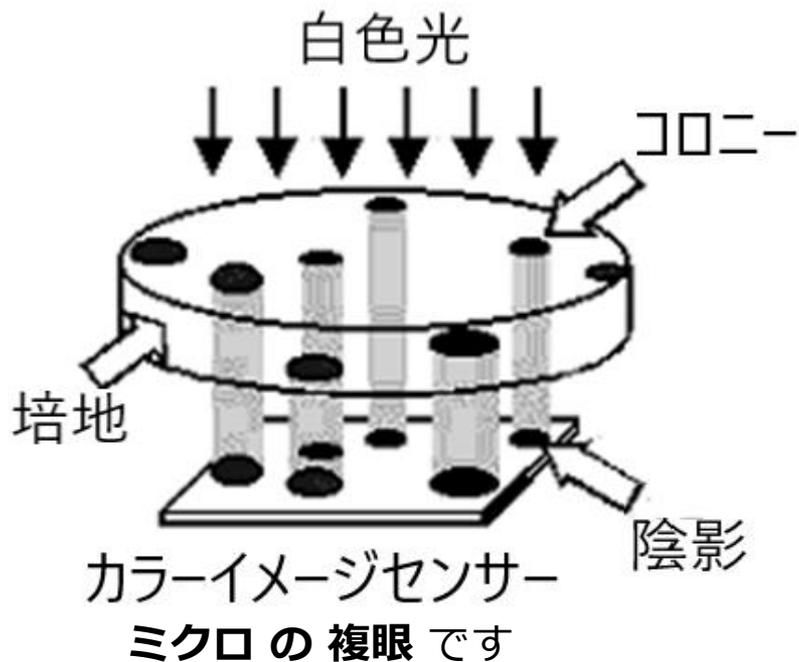
○**全自動でカンタン**

○**マイクロコロニー検出で速い**



画像検出

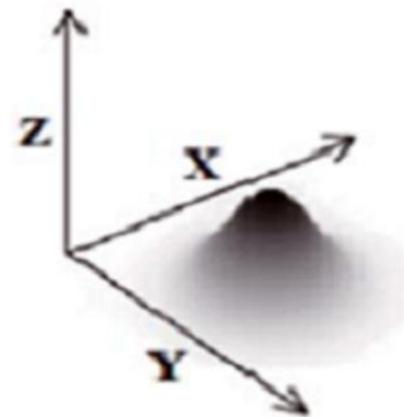
概念



検出し始めるマイクロコロニーの大きさは、**白血球** くらい大きさ (直径は $12\sim 15\mu\text{m}$) ですが、
センサー素子の大きさは、 $1\mu\text{m}$ 以下なのです。

センサーはアレイ状 (画像を写す基盤の目) の
バックスクリーンです。

ミクロの目 (複眼) で得た
マイクロコロニー 画像
(3D 情報 です)

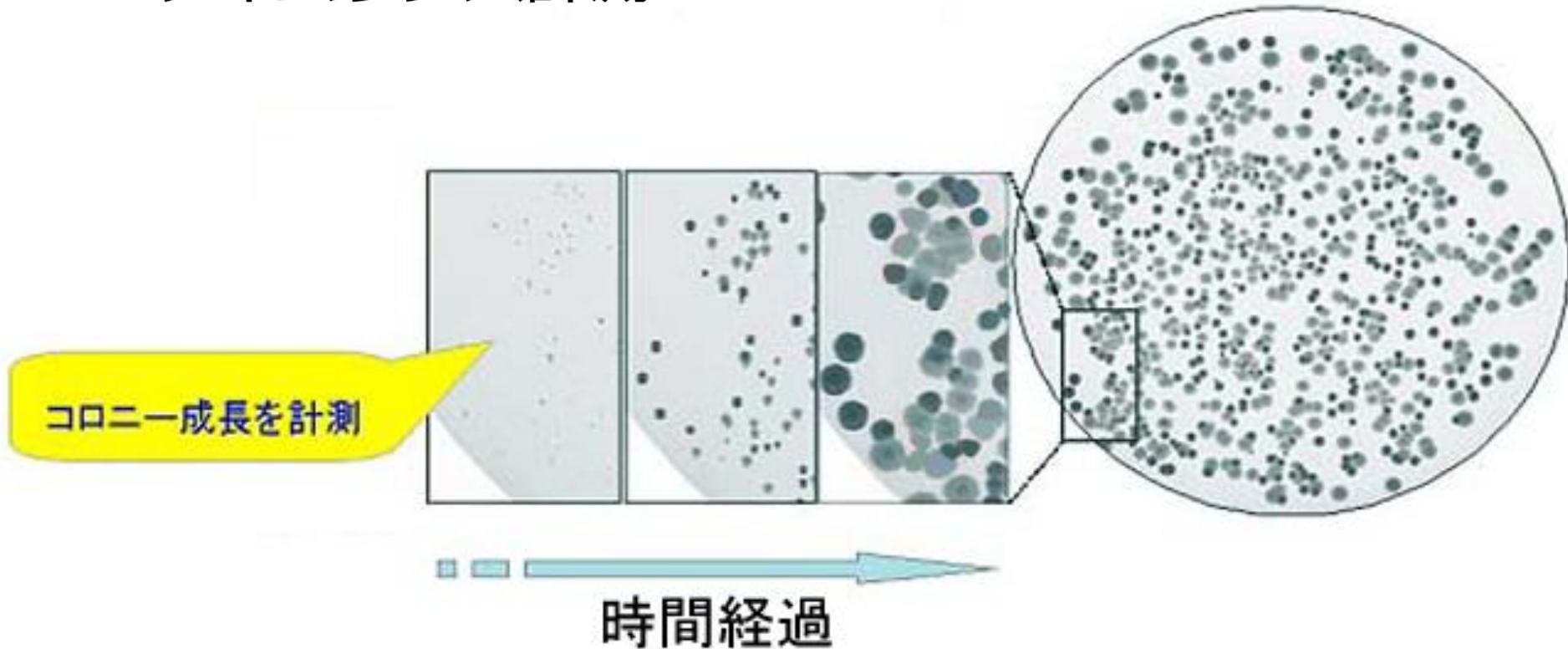


形態学的 画像勾配

Morphological
shadow density gradient

白色光源で 培地中のコロニーの影を
カラーイメージセンサーに **マイクロコロニーの画像** を投影します。

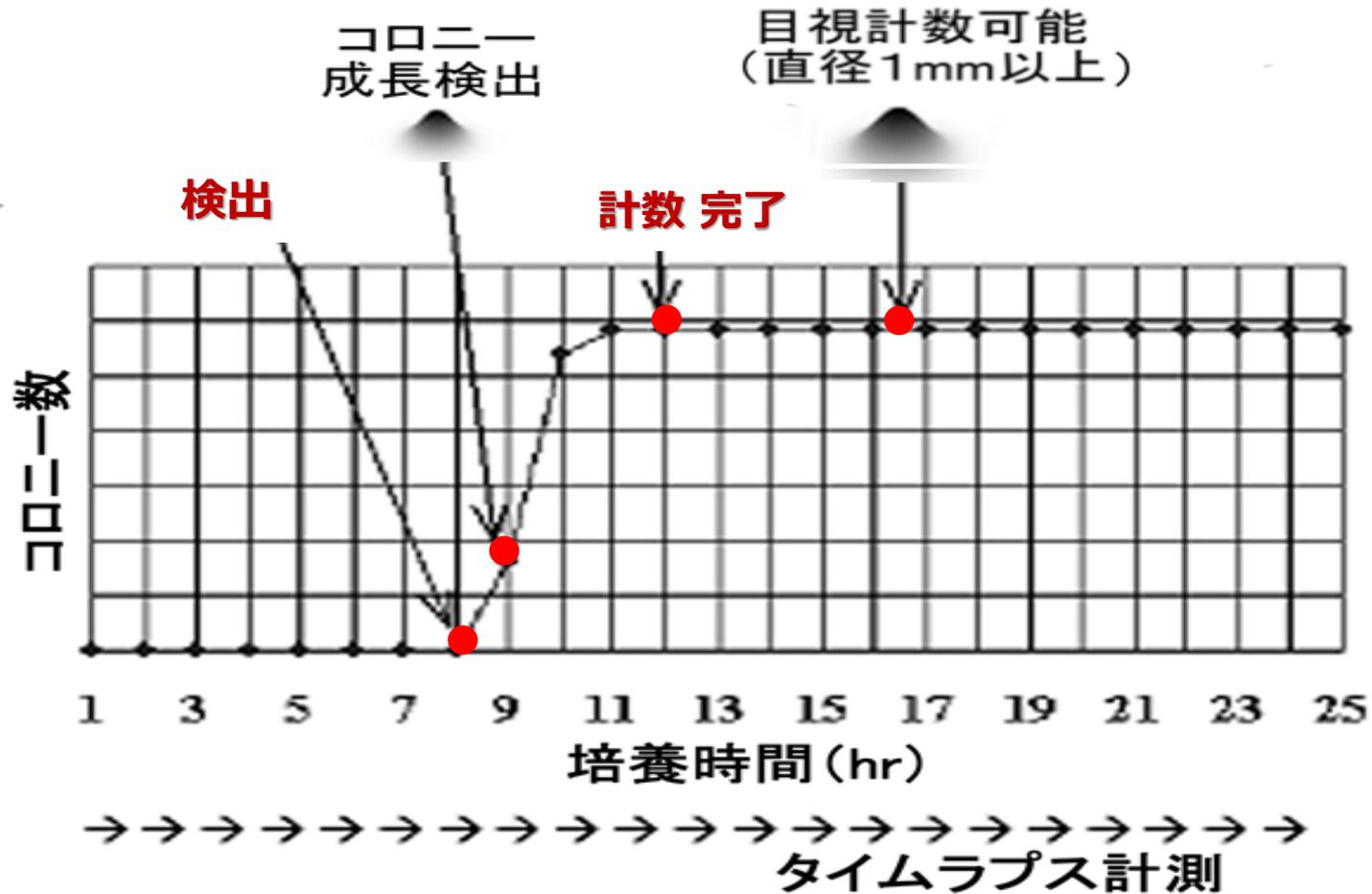
タイムラプス計測



シャーレ全体を培養しながらモニターしながら
(30分に一回のタイムラプスモニター)

マイクロコロニーの成長を計測します。

コロニーカウント グラフ



培養時間を X 軸として

自動的にグラフが描かれます。

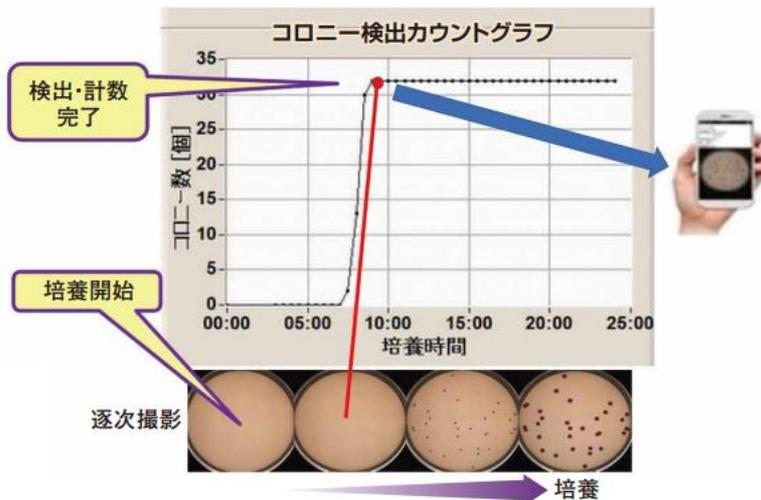
タイムラプス画像解析法

(マイクロコロニー法に適用)

Time-lapse shadow image analysis

新エネルギー・産業技術総合開発機構 (NEDO) の コンソーシアム研究開発プロジェクト に採択され、開発されています。(仙台高専, マイクロバイオ(株))

工学と農学の
クロスオーバー



日本発 技術
科学的事実として
論文発表



Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Journal of Microbiological Methods

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jmicmeth



Noise-free accurate count of microbial colonies by time-lapse shadow image analysis

Hiroyuki Ogawa ^{a,d}, Senshi Nasu ^b, Motomu Takeshige ^c, Hisakage Funabashi ^{d,1},
Mikako Saito ^d, Hideaki Matsuoka ^{d,*}

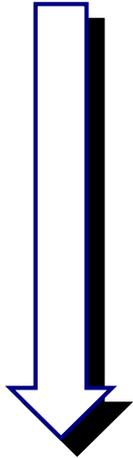
※ [寒天培養による微生物の標準試験法を迅速数値化した技術開発] として、
科学技術賞 (技術部門) を受賞し、文部科学大臣より表彰されています。

マイクロコニー法

全自動 迅速 微生物 検出装置

実用化された

恩恵



自動 迅速

- * 公定法 自動化
- * 大腸菌群 検査
- * 一般生菌数
- * 試料1ml 検査
- * フィルター法
- * カビ 酵母 検出

全自動

リアルタイム
検出

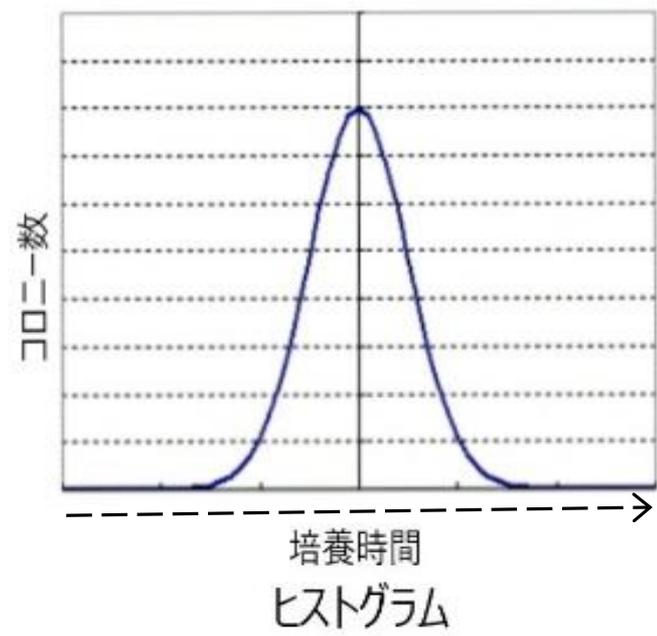
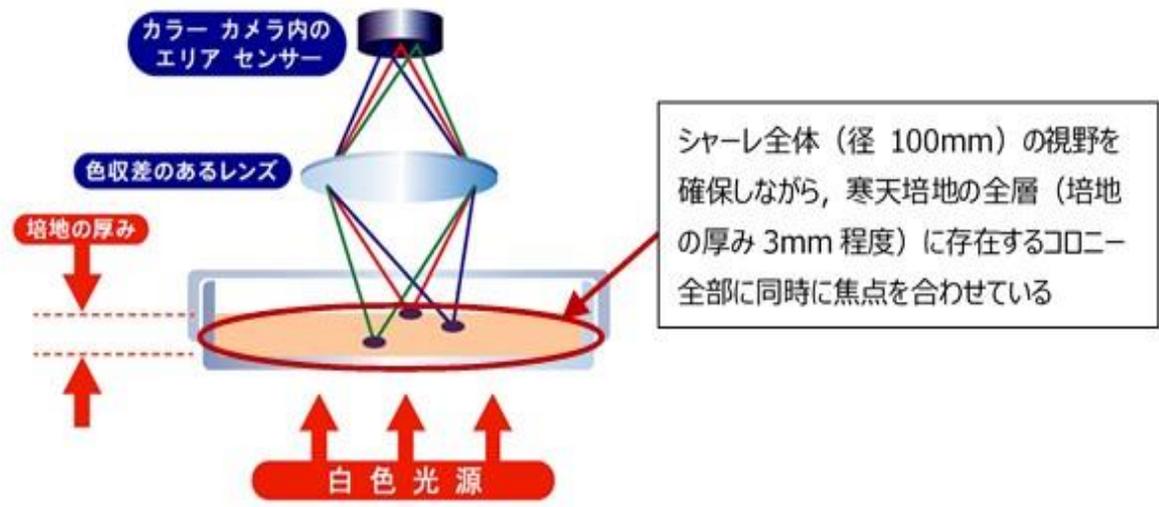
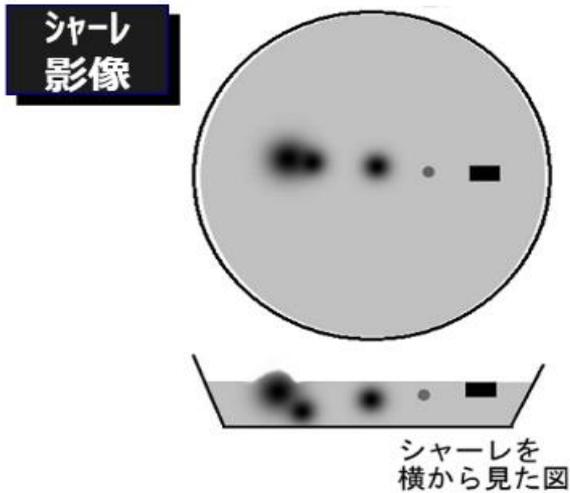
自動通報

リモート
コントロール

◎ 寒天培地 性能 評価法 確立

- 確実な 陰性試験 (定性試験) 自動化
- 精確な 定量試験 (一般生菌数カウント) 自動化
※ 1～数万個以上

寒天培地の性能評価法の確立



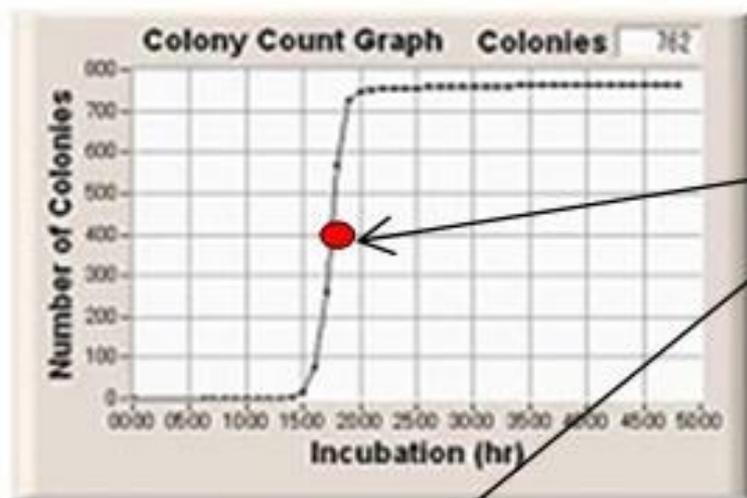
ヒストグラム

検出されてくるコロニーは標準分布 ヒストグラムを形成します。

標準菌株での。
性能良い培地は **正規分布**を示します。

性能評価法のグラフ表示

寒天培地評価：性能が**良い**例



コロニーカウントグラフの midpoint に

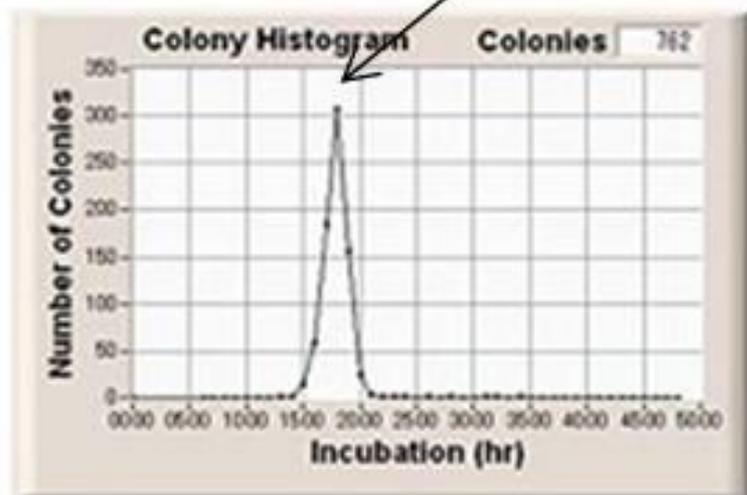
至る前は、傾きは+

過ぎると、傾きは-

ヒストグラムは、コロニーカウントグラフの midpoint で
ピークとなる。(正規分布を形成する)

至る前は、増加する

過ぎると、減少する

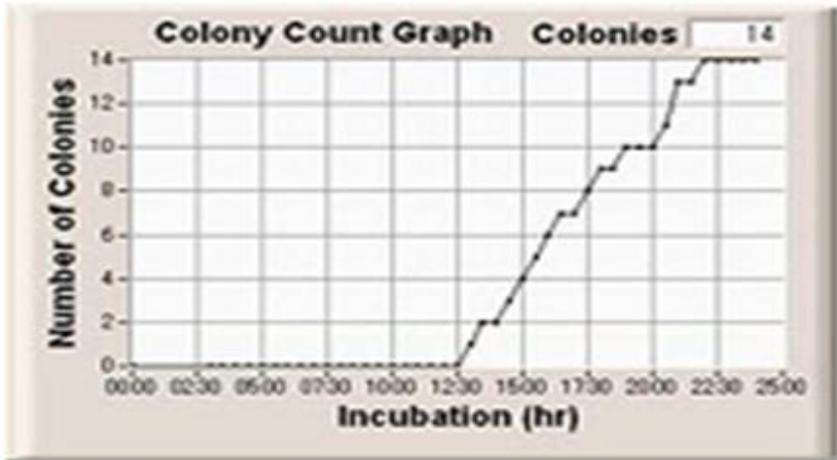


PDA 寒天培地
C. albicans

30分毎に影像取得

性能評価法のグラフ表示

寒天培地評価：性能が悪い例



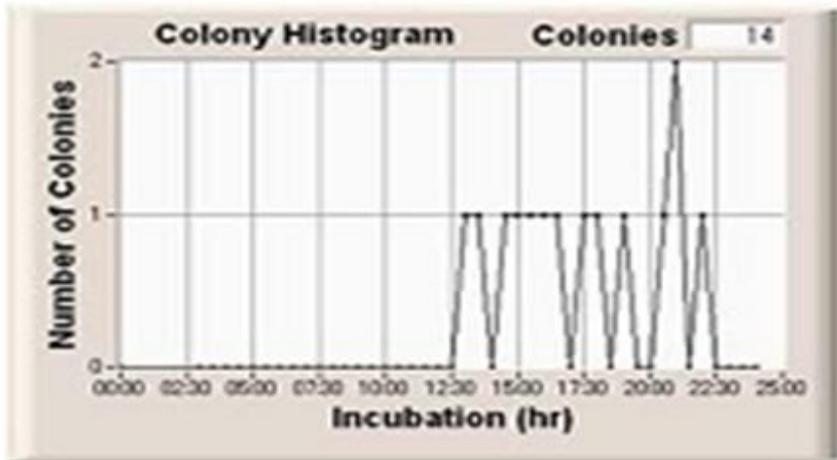
標準菌株： *E. coli* (NBRC3972)

寒天培地：デソキシコレート寒天培地（塩分濃度 1 %）

試料形態：1ml試料，混釈，

培養温度：35℃，24時間培養

検出結果：回収率は20%以下で，グラフの形状が悪く性能が悪い



デソキシコレート寒天培地の塩分濃度を1%まで上げてその培養性能を *E. coli* の標準菌株で確認した

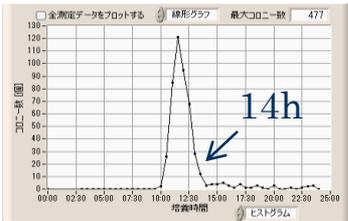
このデソキシコレート寒天培地は塩分濃度が1%以上になると24時間培養後で

回収率も20%以下になることが分かる

デソキシコレート寒天培地
塩分濃度 1 %

大腸菌群 陰性試験 プロトコル時間設定

大腸菌群は、シトロバクター、エンテロバクター、大腸菌、クレブシエラ、エロモナスなどが含まれますが、この中でもエロモナスは増殖が遅いと言われています。



シロバクター

Citrobacter freundii
(NBRC12681)



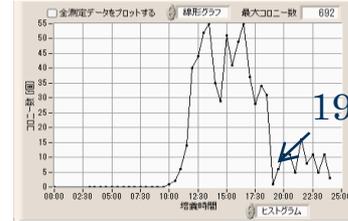
エンテロバクター

Enterobacter cloacae
(ATCC 13047)



大腸菌

Escherichia coli
(NBRC3972)



クレブシエラ

Klebsiella pneumoniae
(ATCC 33495)

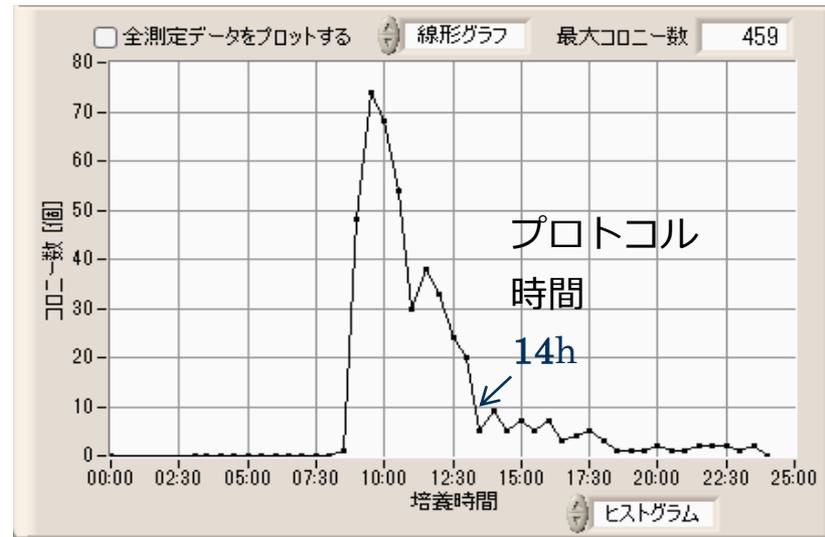


エロモナス

Aeromonas hydrophila
(NBRC 3820)

注意)

- クレブシエラは培養状況が悪いです。
至適培養温度が異なる可能性があります。
- 同じ寒天培地でも性能は
メーカーによっても、異なります。
- 寒天培地の正確な評価には
マイクロコロニー法の装置が必要です。



大腸菌群 総合 ヒストグラム (スペクトラム)

陰性試験の全自動計測ができます

デリキシロイト
寒天培地
35℃培養

プロトコル時間まで培養して
何も検出しないとき
大腸菌群は陰性です。

微生物検査装置が何も検出しなくても、
陰性試験（定性試験）の**全自動計測**ができる、

このアプローチは。。。

☆ 好気性菌，嫌気性菌，に係わらず，

無菌検査にも**同様**に適用できます。

1 生菌がいたら反応するもの（装置でも用具でも）があれば、
プロトコル時間を設定して、無菌検査ができます。[方法論です]
自動化するには装置が必要です。

しかし、**装置**は、
設備として**導入費用**が**高額**なのでは?。。。

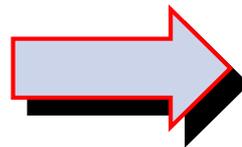
マーケティング動向 ダウンサイジング

近年の技術革新は目覚ましく、**コンピューター**を例にあげれば、数十年前と比べて **処理速度**、**データ保存サイズ**などは**1,000倍以上**も越えたとともに、**実物は手のひらサイズ**になっています。画像取得用**カメラ**の**画素数**も**1千万 (10MP)**を越えたにも関わらず**小型**で**廉価**になっています。

これに併行して、**微生物データ解析プログラム**などは著しく**進化**をしています。

このような状況の中、**微生物検査装置市場**でも、**小型化 (ダウンサイジング)**が進行しています。

装置 ダウンサイジング



大型機から

小型機へ

マーケティング動向 装置サブスクリプション

米国では、IT産業ビジネスが巨大化した一環で、**所有して使用**することから、**所有しないで使用**するという**サブスク**（サブスクリプション）のビジネスに切り替わってきています。

音楽、週刊誌、新聞、なども月額を支払って、**インターネットでダウンロード**するようになっていきます。米国で生活必需品の**クルマ**は**税金、保守、車検、保険付き**、のサブスクが数十年前から提供されています。

米国の微生物検査装置業界では、装置は販売、リース、が主体で、サブスクでの提供は、まだされていないようです。

このような状況の中、国内の検査装置市場では、検査業務の自動化を推進してユーザーの装置導入費用と運用コスト低減のために、一部の装置メーカーから保守付の装置サブスクの提供が始まっています。

装置導入 サブスク

装置
購入

装置
リース

装置
短期レンタル
(短期サブスク)

装置
サブスク



ご清聴ありがとうございます



<https://www.microbio.co.jp>