

無菌試験の全自動計測

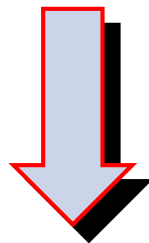


マイクロバイオ株式会社

微生物 検査 の 目的

定性試験
(陰性試験)
(無菌試験)

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

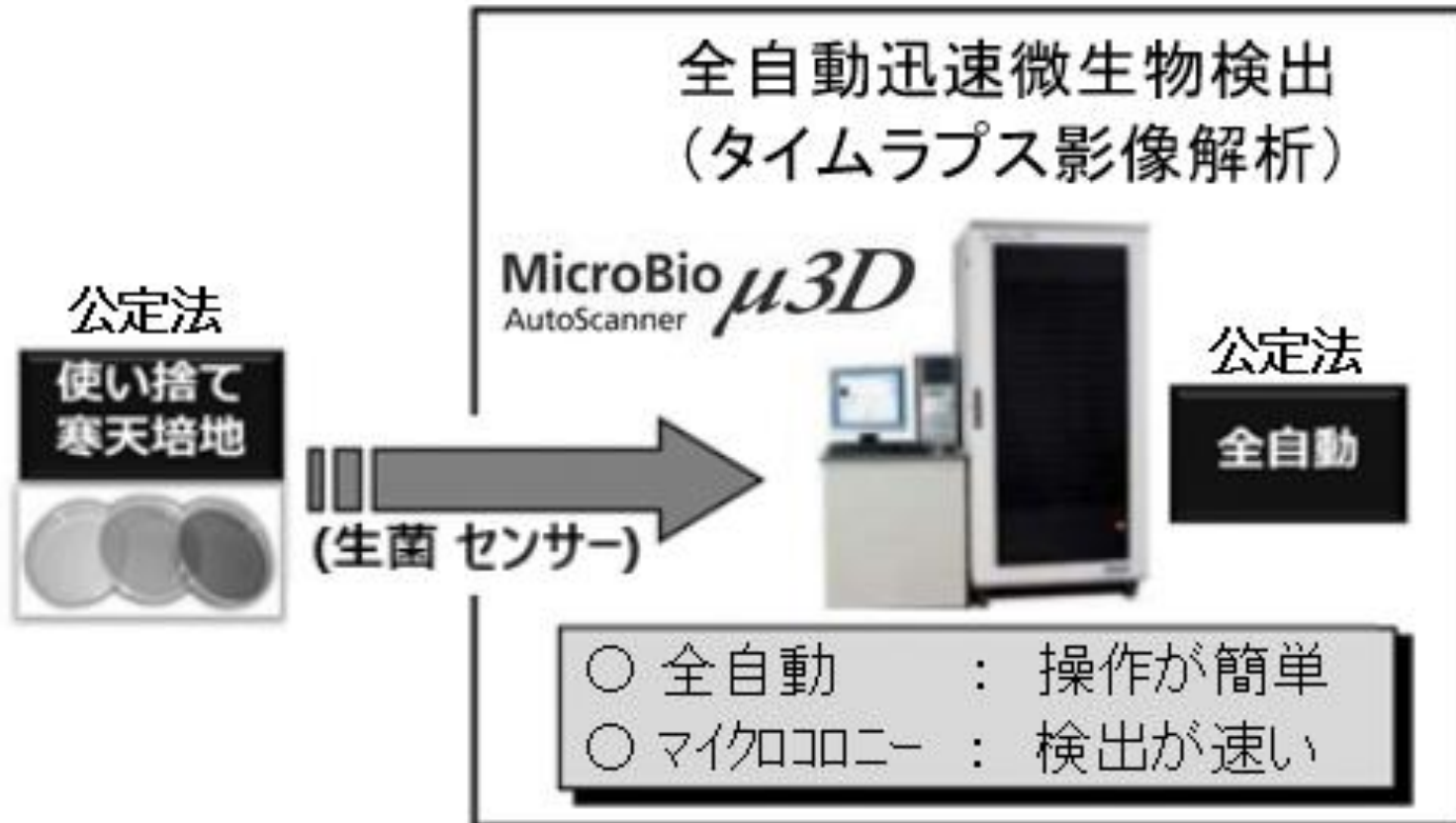
必要な装置は。。。

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)

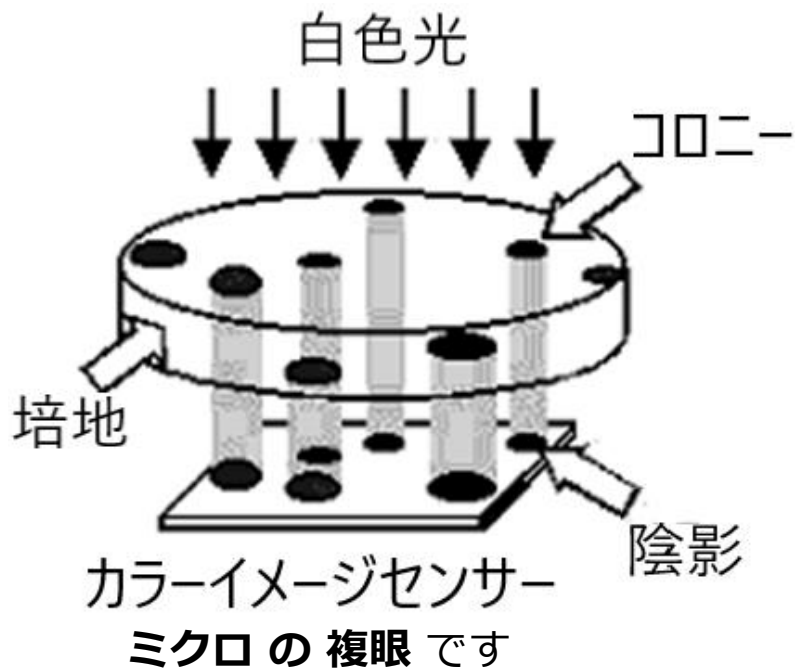
※ マイクロコロニー法は

医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。



影像 検出

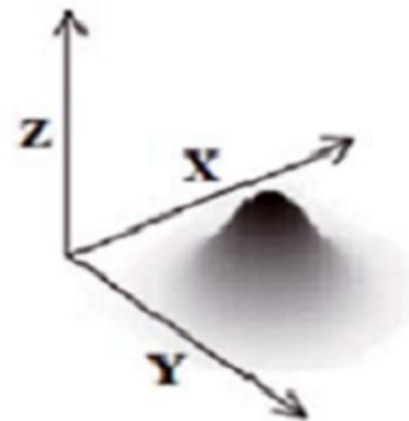
概念



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12~15 μm) ですが、
センサー素子の大きさは、1 μm 以下なのです。

センサーはアレイ状 (影像を写す碁盤の目) の
バックスクリーンです。

マイクロの目 (複眼) で得た
マイクロコロニー 影像
(3D 情報 です)

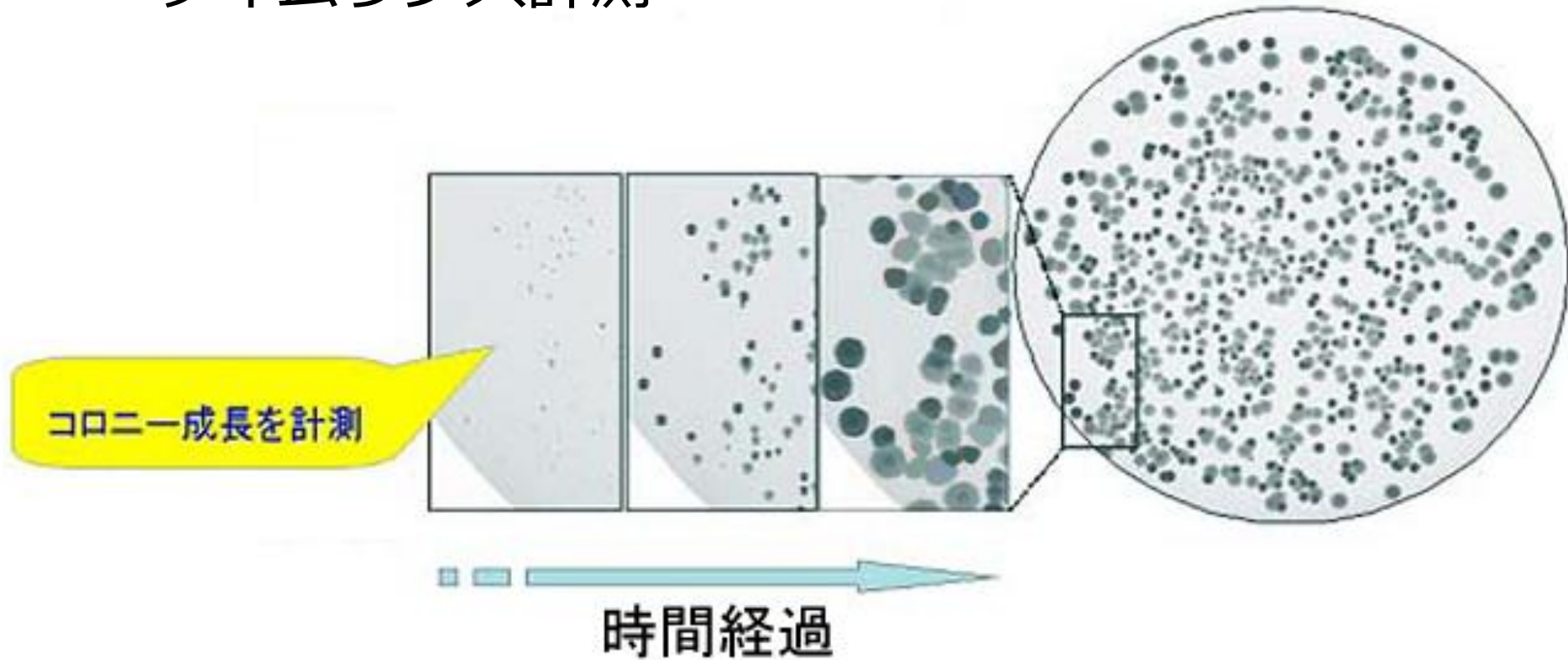


形態学的 影像勾配

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影像** を 投影 します。

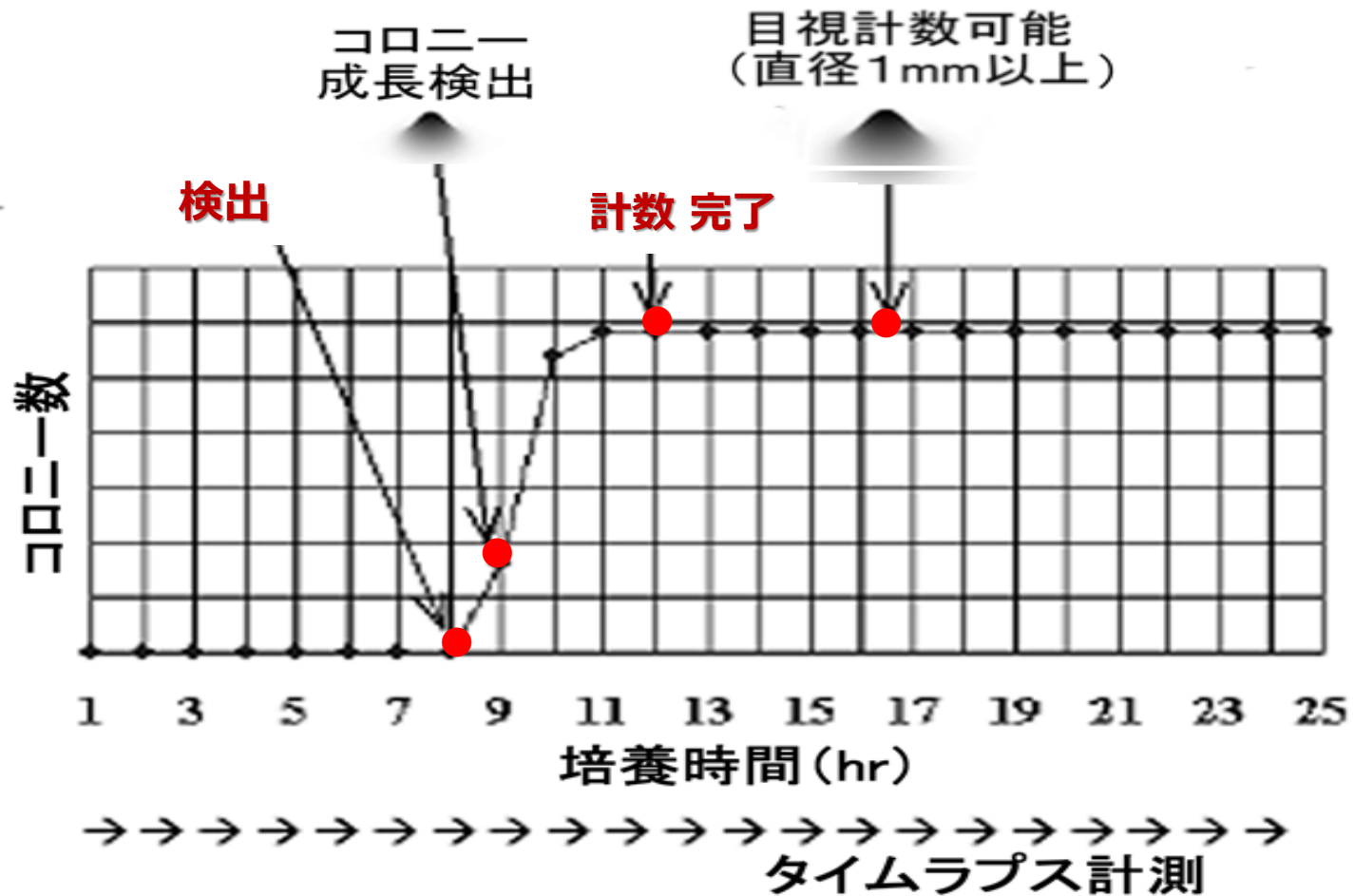
タイムラプス計測



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

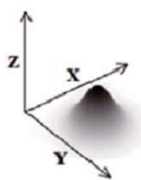
新エネルギー・産業技術総合開発機構 (NEDO) の コンソーシアム研究開発プロジェクト に採択され、開発されています。(仙台高専, マイクロバイオ(株))

寒天培地 (生菌センサー)

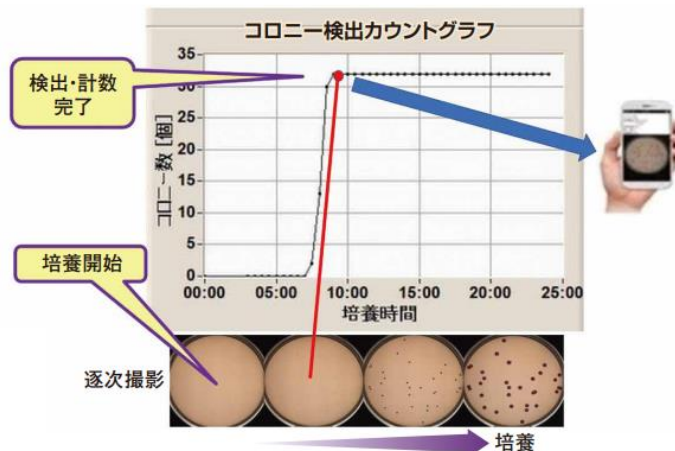
回収率100%のもの

農学 と 工学 の
クロスオーバー

寒天培地
生菌センサー



実用化された装置



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,*}

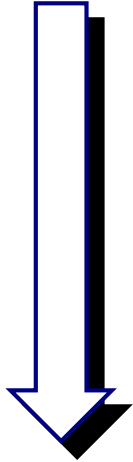
※ [寒天培養による微生物の標準試験法を迅速数値化した技術開発] として、
科学技術賞 (技術部門) を受賞し、文部科学大臣より表彰されています。

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

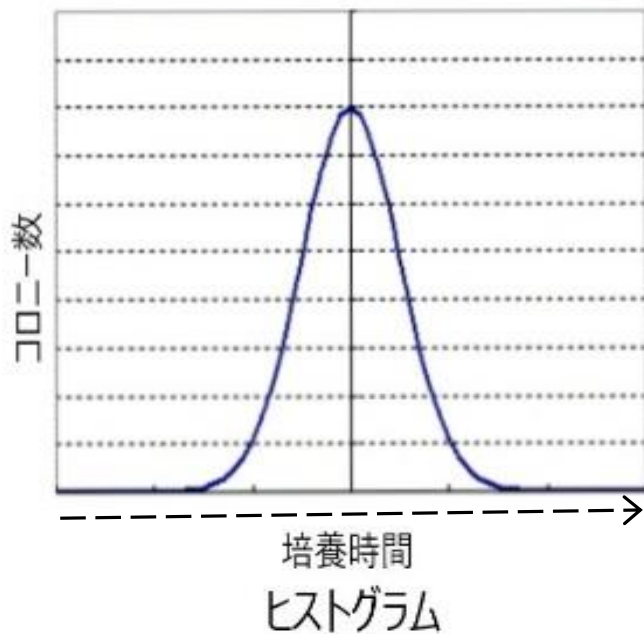
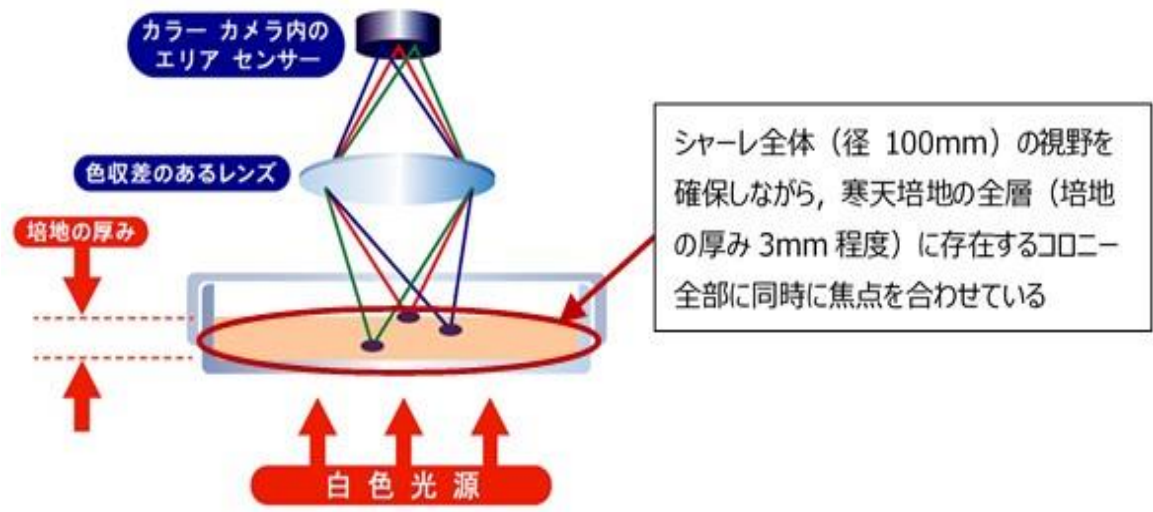
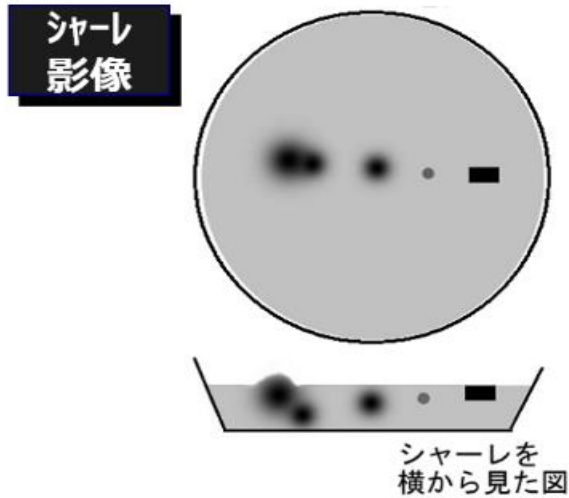
自動通報

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



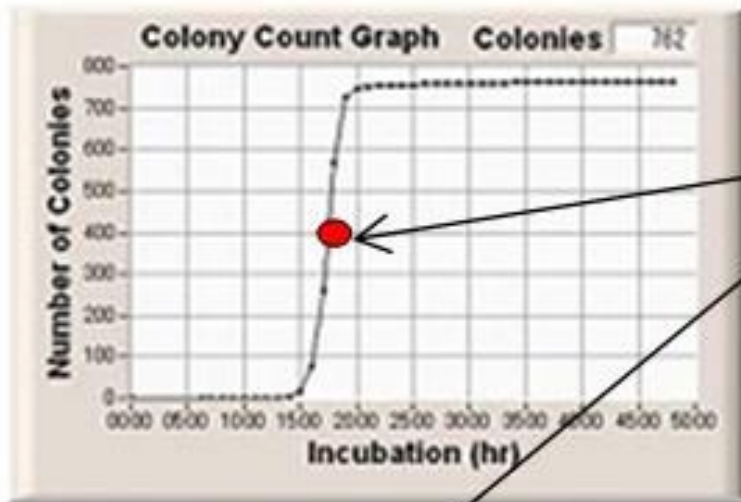
ヒストグラム

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

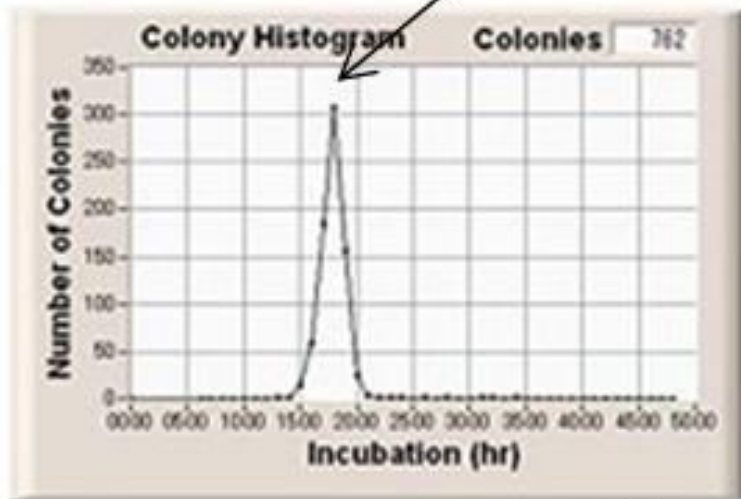
至る前は、傾きは+

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



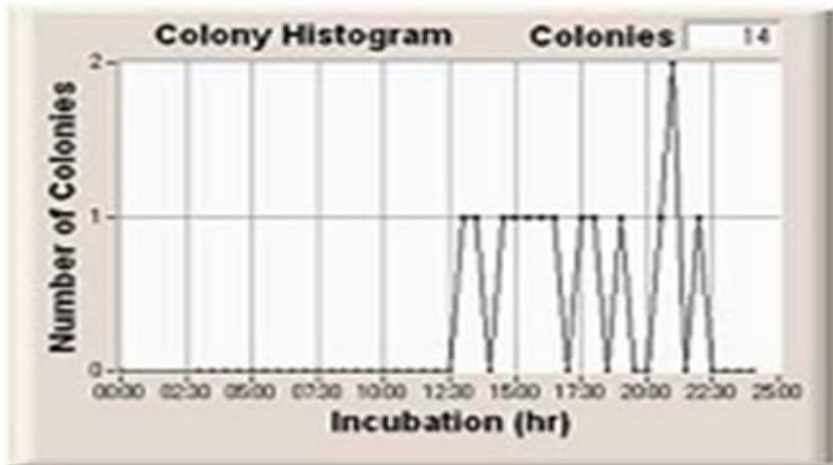
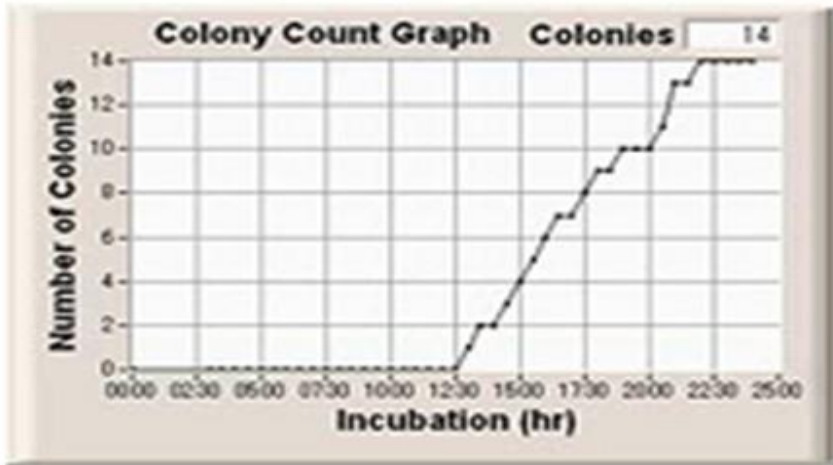
PDA 寒天培地
C. albicans

30分毎に影像取得

無菌検査には
回収率100%の
最良培地が
必要です。

性能評価法のグラフ表示

寒天培地評価：性能が悪い例



デソキシコレート寒天培地
塩分濃度 1%

※ 検査に使用出来ません.

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°C，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

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)



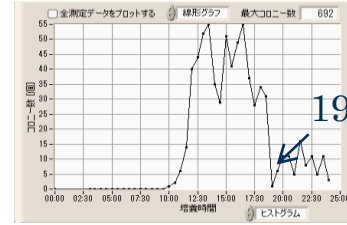
エンテロバクター

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)

- 同じ大腸菌群でも、腸内細菌と土壌由来などでは**至適培養温度**が異なります。
- 同じ**寒天培地**でも**性能**はメカによっても、**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。



デリキソレイト
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。

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

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。

（微生物検査は、生菌がないことを確認するため、実施されています。）

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 **μ3D 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？。。。

MicroBio μ 3D[®]
AutoScanner

「らくらく導入パック」



マイクロバイオ株式会社

