

目的

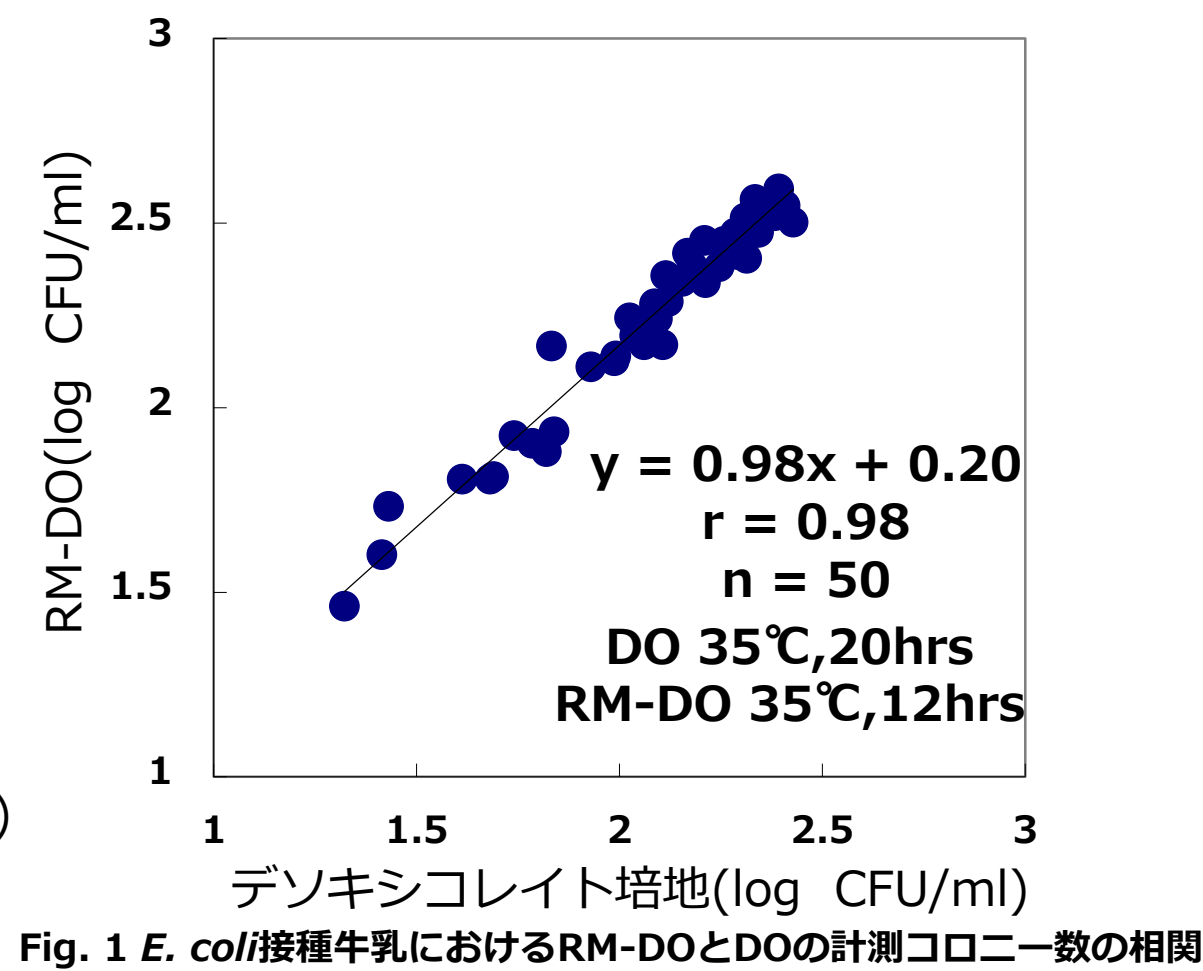
食品の微生物検査において、短時間で培養検査の結果を出すことは、出荷判断などにおいて大きなメリットが得られる。特に大腸菌群検査の様な定性検査の場合、陽性となった場合には、製商品の出荷判断にも関わる。異常な結果ほど早期対応するために、より早く情報を得ることが重要である。大腸菌群の検査に用いられるデソキシコレイト寒天培地(DO)では、判定するまでに最短で培養開始後18時間が必要である。それに対して、ラピッドメディア-DO (RM-DO)を使用すると培養開始後12時間での、迅速な大腸菌群の検査が可能であることは報告済みである^[1]。本報ではそれに加えて、24時間自動(30分または、60分ごとの定時モニタリング)でシャーレ上のコロニー検出を感知することが出来るインキュベーター内蔵式リアルタイム自動コロニーカウンター ScanStation (仏interscience社製)を併せて利用することで、ラピッドメディア-DOでの *Escherichia coli* の培養において、コロニー検出の感知を更に迅速化することができないか検討したので、報告する。



ラピッドメディア-DOの使用

●ラピッドメディア-DO(RM-DO)^[1]

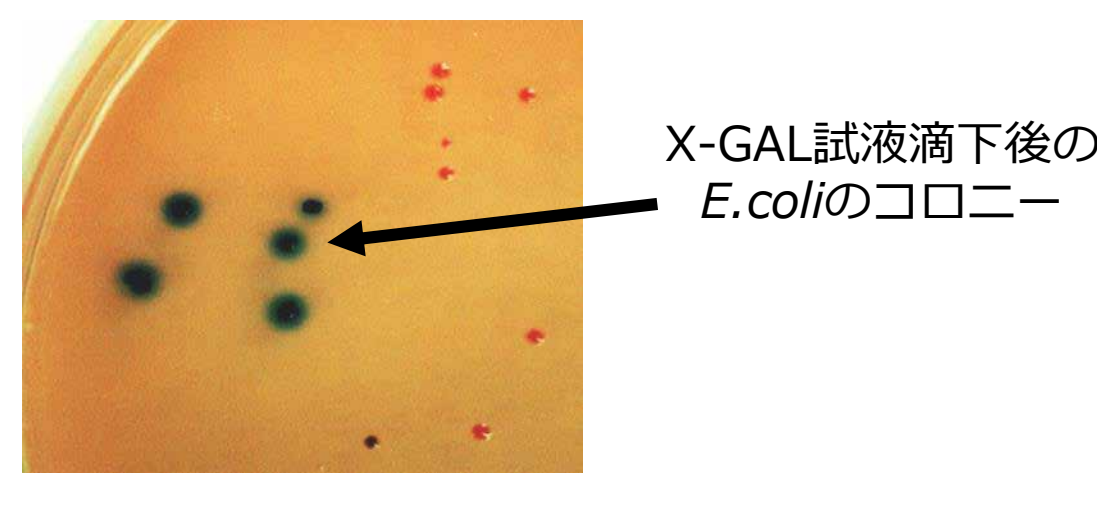
- 高い吸収性能
30分以内で1 mlの試験液の吸収が可能
- 高いコロニー視認性能
培地表面に菌が生育
混釈培養と比較し溶解培地の温度の影響がない
- 迅速な大腸菌群検査が可能
培養開始後**12時間**で混釈培養と同等以上の生育性能
(デソキシコレイト培地(DO)による混釈培養では培養開始後最短18時間必要)



●X-GAL試液を用いた検査法

大腸菌群確認試験の簡便化

X-GAL試液をRM-DOの培地表面のコロニーに直接滴下し反応させることにより、短時間で簡便に大腸菌群の確認が可能である



Scanstationの活用

●Scanstation

インキュベーターとコロニーカウンタを1台に集約

シャーレ投入 → 画像撮影 → コロニーカウント → 結果判定

高性能カメラによる高い解像度・独自のアルゴリズム
コロニーの成長にフォーカスしたコロニーカウントシステム

24hr30分間隔でシャーレ上のコロニーをチェック

コロニー発生時は表示が赤色に変化

コロニー発生時は、直ちにアラート発報
異常の早期発見・早期対応が可能

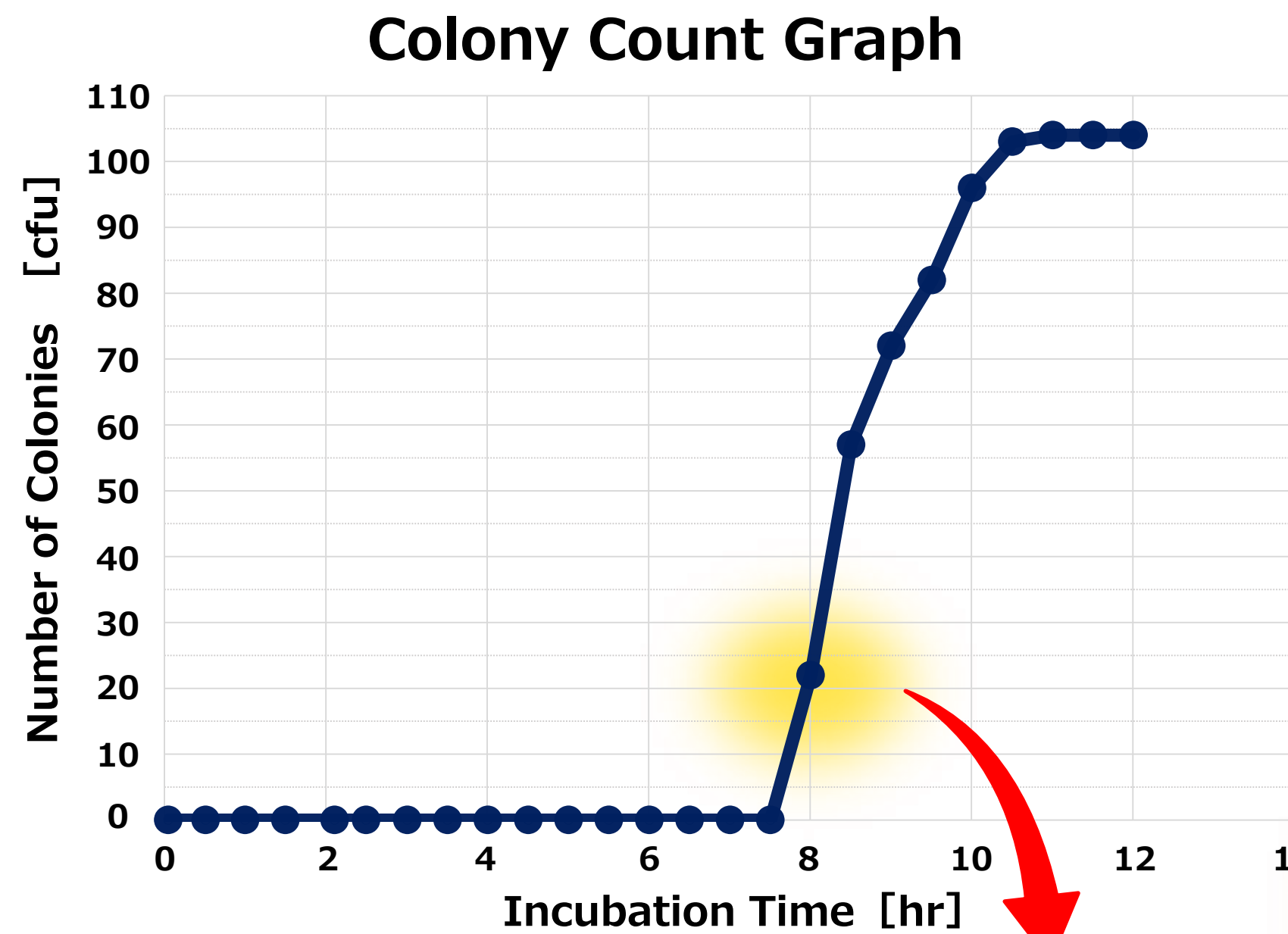
ラピッドメディア-DO + Scanstationを活用した判定検査の迅速化

●ラピッドメディア-DOを用いたコロニー検出迅速化確認

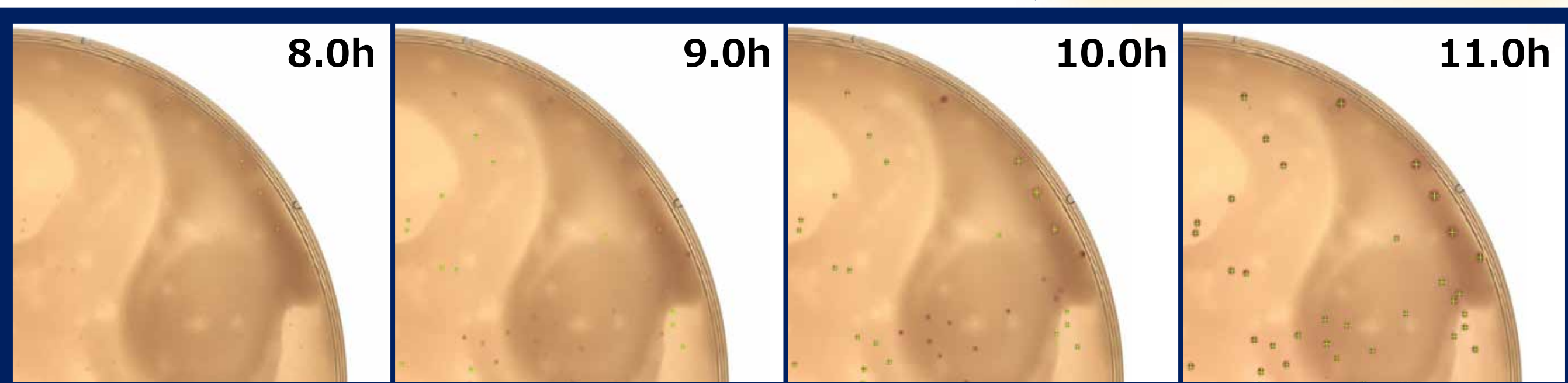
[方法] シャーレ1枚当たり約100 cfu 検出するように調製

- ①牛乳100 mlに *E. coli* を約10000 cfu添加
- ② *E. coli* 添加済みの牛乳1.0 mlをRM-DOに接種
- ③ Scanstationにて培養し、検出コロニー数の経時変化を確認

[測定結果]



ラピッドメディア-DOとScanstationを組み合わせることでそれぞれ
最大10時間短縮
最大4時間短縮



24時間リアルタイムで画像解析を行うことで、経時的に大きくなる場合にコロニーと判断
→ 高精細画像によるコロニー検出情報を早期に得られる可能性がある

ラピッドメディア-DOの特徴を活用しScanstationを用いることで
目視では判別し難い小さなコロニーまで迅速に検出可能

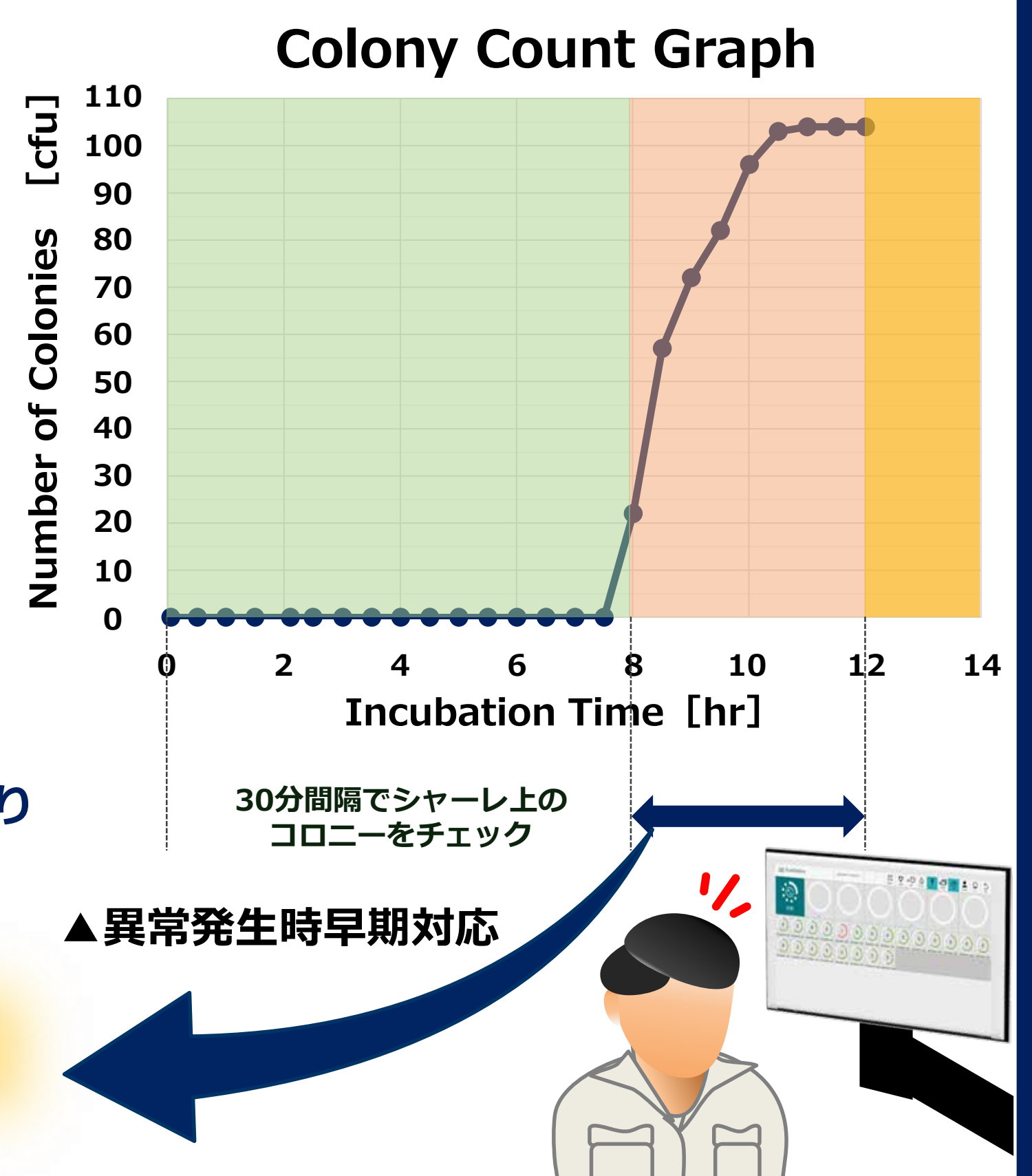
●目視とScanstationにおけるコロニー検出能比較

実物大 8.0h vs 12.0h

Scanstationによりコロニーと認識できる最短時間のシャーレ vs 目視による最短判定時間のシャーレ

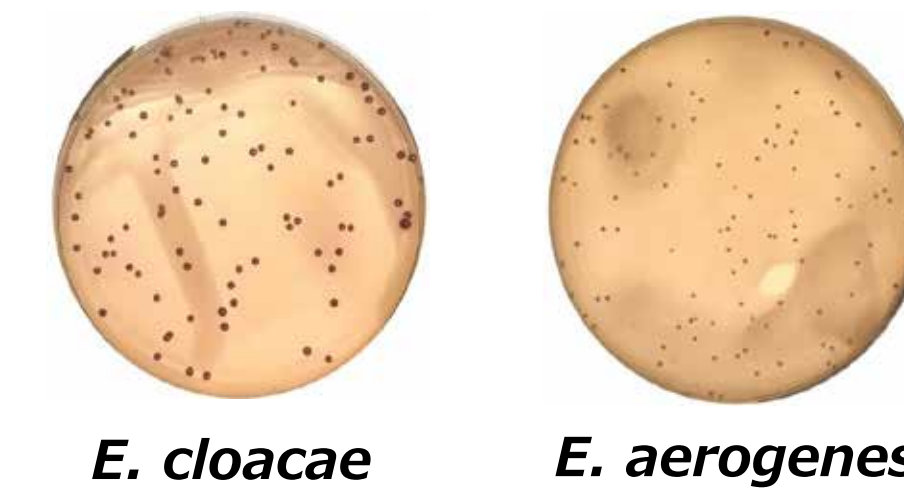
目視での認識は困難 vs ニュートラルレッドの呈色あり
コロニー隆起あり

ラピッドメディア-DO + Scanstation = 判定の迅速化
アラート表示により早期に品質異常時での対応が可能

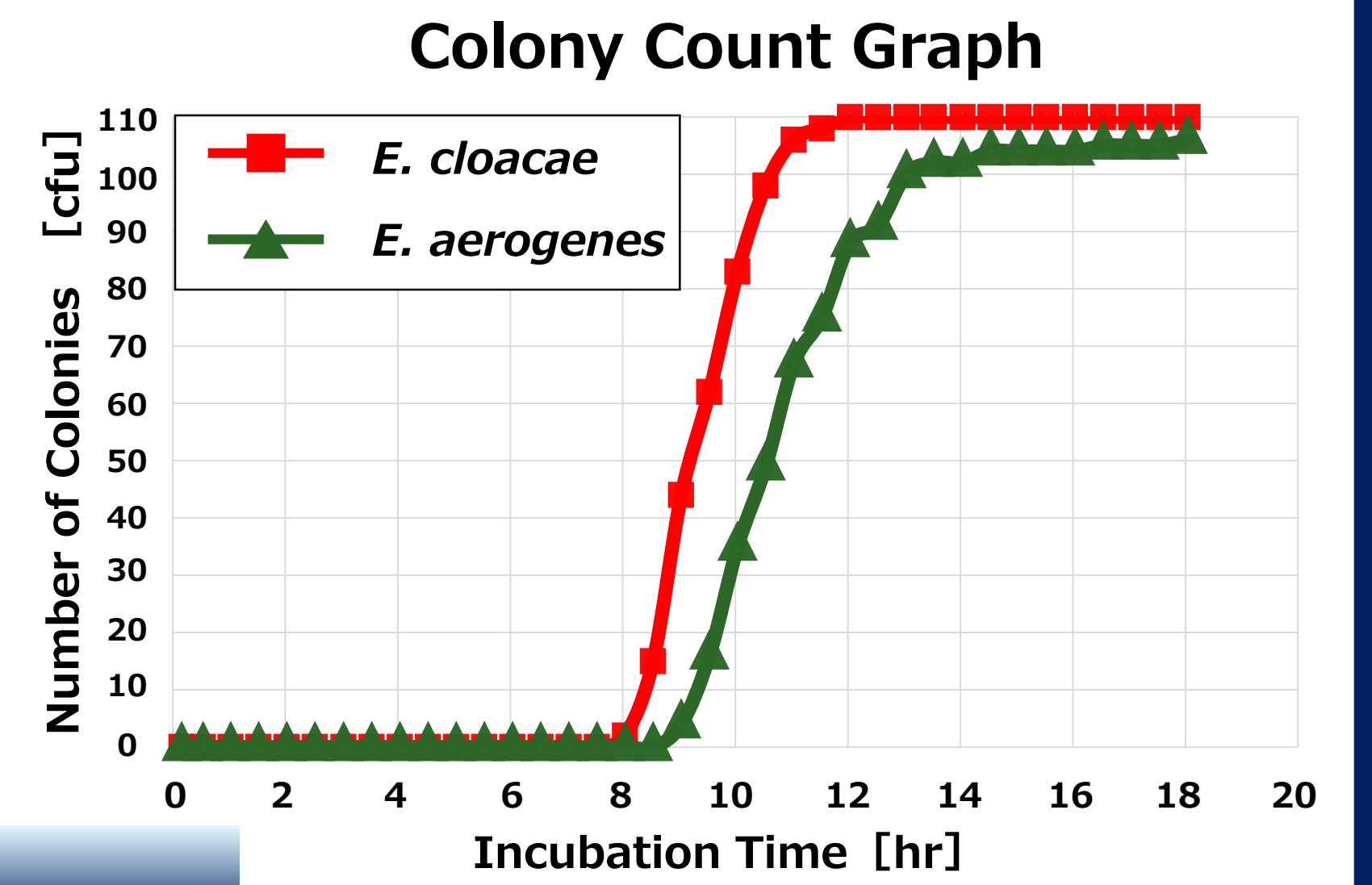


● *E. cloacae*, *E. aerogenes* の検出分析

菌種の違いが検出に与える影響調査



E. coli と同様にラピッドメディア-DOの最短判定時間12時間と比較し早期にコロニー検出が可能
異なる菌種においてもコロニーを迅速に検出可能であると示唆された



ラピッドメディア-DOとScanstationの活用により
品質異常時におけるさらなる早期対応が可能

結言

■ラピッドメディア-DO (RM-DO) の使用

→ 培養開始後**最短12時間**での、迅速な大腸菌群の検出が可能である

■Scanstationの使用

培養開始後24時間リアルタイムで画像撮影を行い、経時的に大きくなる場合にコロニーと判断

→ 正確なコロニー検出情報を早期に得る事が可能

目視では判断し難い小さなコロニーまで**最短約8時間**で最初のコロニーを迅速に検出可能

ラピッドメディア-DOとScanstationの活用により
品質異常時におけるさらなる早期対応が可能
(最短約8時間)