

コロニーの色と増殖速度情報を利用したデジタル顕微鏡法の開発

仙台電波高専 那須潜思, 藤原哲, 竹茂求, 鹿股昭雄
マイクロバイオ株 宮下光良, 小川廣幸

【目的】 筆者らは、標準平板菌数測定法において、生菌の成長過程を培養開始時から継続して逐次観測することにより、生菌数を迅速に自動計測するシステムを開発してきた^{1,2)}。これまでに、深度の異なる位置に点在するコロニーを正確に検出する光学系^{3~4)}、および、重なったコロニーを画像処理によって分離識別するアルゴリズムの開発により、*E.Coli* (ATTC25922)の実験では、培養開始後6時間程度で生菌数を正確に確定できることが確認された²⁾。

今回、これまでのシステムにコロニーの色情報を解析する機能を付加した。特定菌を選択的に生育させる選択培地を用いて培養し、本システムを用いて、コロニーの色と成長速度から特定菌を判別することを試みる。本報告では、本システムを食中毒菌に対して適用した基礎実験の結果を述べる。

【方法】 本システムでは、生育するコロニーが特定菌かどうかを判定するために、予めコロニーの色情報データベースを作成しておく。コロニーの増殖過程を培養開始時からカラー画像として継続的に取得し、検出された個々のコロニーの色をデータベースと比較して判定する。また、本システムによるコロニーの検出時間は菌種によって一般に異なることも、菌種の判別に利用する。

最初に以下に述べる方法で、菌の色情報に基づくデータベースを作成した。まず、*Escherichia Coli* 0157を0157用の選択培地にて35℃で培養する。培養24時間後のシャーレのカラー撮影画像からコロニー領域を抽出して、RGB各成分の濃度分布から0157のデータベースとする。また、*Salmonella Typhimrium*をサルモネラ用の選択培地にて35℃で培養し、同様にサルモネラのデータベースとする。なお、選択培地にはマイクロバイオ株が開発したものをを用いた。

次に菌種判定実験について述べる。*E.Coli* 0157の10菌株を0157用の選択培地で、また*S. Typhimrium*, *S. Enteritidis*各1菌株をサルモネ

ラの選択培地で、それぞれ24時間培養する。各検体について培養開始から継続的に計測し、検出されたコロニーを0157あるいはサルモネラのデータベースと比較することにより、当該菌と判定されたコロニーの数と当該菌でない判定されたコロニーの数を各々時間の関数としてプロットする。ここで、コロニー領域内の半分以上のピクセルのRGB成分がデータベースのRGB成分の分布と一致することを、個々のコロニーの菌種の判別条件とした。

【結果】 全12菌株に対して*E.Coli* 0157のデータベースと比較した結果、0157は全て0157と判定され、*S. Typhimrium*と*S. Enteritidis*はともに0157ではないと判定された。全12菌株に対してサルモネラのデータベースと比較した場合には、*S. Typhimrium*と*S. Enteritidis*のみがサルモネラと判定された。また、培養後のコロニー検出開始時間は、ほとんどの0157が6~7時間であり、*S. Typhimrium*が12時間、*S. Enteritidis*が9時間と菌種特有の増殖速度が確認された。

本システムを実際の食材に適用した結果については、中川らより別稿にて報告予定である。

【謝辞】 菌株及び種々の情報を提供して頂いた(財)東京顕微鏡院の中川弘博士に深謝する。本研究は、平成14年度補正予算による中小食品産業活性化技術開発支援事業の助成を受けて実施された。

【文献】

- (1) 竹茂, 那須, 佐々木, 鹿股, 高田: 第23回食品微生物学会学術総会, 48 (2002)
- (2) 竹茂, 那須, 佐々木, 鹿股, 高田, 小川: 計測自動制御学会論文集, 39, 6, pp.521-527 (2003)
- (3) 太田, 那須, 竹茂, 鹿股, 小川: H15電気関係学会東北支部連合大会, 2E23, P182 (2003)
- (4) 佐藤, 那須, 竹茂, 小川: 第51回応用物理学関係連合講演会, 29p-R-14 (2004)