

15Ap-5

デジタル顕微鏡を用いた微生物限度試験法の迅速化の評価

あいざわまさつぐ いいだともみね たけうち ま り こ
○相澤昌嗣、飯田友峰、武内真理子
(武田薬品工業(株)・CMC 開分研)

〔目的〕

デジタル顕微鏡方式細菌検出装置、Biomatic™ DMCS S-12 (マイクロバイオ株式会社) は、培養中の寒天培地に光線を照射し、培地での微生物の増殖結果による「影像」を CCD センサーで画像イメージとして取り込みコンピューターによる解析により逐次コロニー数を把握するシステムである。このシステムによれば、成長しているコロニーのみを検出するので賦形葉等による影響を受け難く、更に微小コロニーの検出・測定が可能であるため、目視に代わるコロニー測定装置として、また、検出時間の短縮による培養期間の短縮化が期待できる。

本研究は、当該機器が各局方記載の非無菌製品を用いた微生物限度試験法 (生菌数試験及び特定微生物試験) の目視に代わる分析機器として有効かどうかの検討、ならびに培養期間の短縮化について評価を行ったので報告する。

〔方法〕 使用検体はランダムに選択した 31 種類の原料、原薬および製剤を、供試菌は各局方記載の 7 菌種以外にも製造環境中から検出された 7 菌種、および熱損傷によって作製した熱損傷菌 (*Salmonera*) を使用した。生菌数試験では、各検体 10g を pH7.0 のペプトン食塩緩衝液等で溶解又は希釈を行い 10~100 倍の試料溶液を調製し、検体存在下でのカンテン平板混釈法に従って試料を調製して当該機器に装着後、総好気性微生物数 (以下 TAMC) は 30~35℃、総真菌数 (以下 TYMC) は 20~25℃ でそれぞれ 3 日間培養した。特定微生物試験では、同じく各検体 10g を用いて試料を調製し、前培養後、各種選択培地に塗抹して 30~35℃ で 24 時間培養した。評価は規定された最長培養期間後のコロニー数を目視との比較によって行った。また、培養期間の短縮化は当該機器の増殖グラフに表示されるコロニー数が一定数に到達した時間、および検出された時間から評価した。

〔結果〕

Biomatic™ DMCS S-12 は、一部の検体中の *Pseudomonas aeruginosa* を除き、検体の種類を問わず、いずれの供試菌において培養 3 日以内で概ね目視と同等の精度によるコロニー測定能力を有することを確認した。これらの *P. aeruginosa* については十分な菌数を測定することは困難であったが、3 日間の培養期間内にコロニーを検出することは可能であった。

以上の結果から、培養期間においても各局方に記載されている生菌数試験に必要な 3~5 日 (TAMC) および 5~7 日 (TYMC) の培養期間をいずれも 3 日間に、特定微生物試験の各選択培地で必要な通常 18~72 時間の培養期間をいずれも 12~15 時間に短縮化できることを示唆した。