インピーダンス測定方式を採用した簡易・迅速検査装置の開発

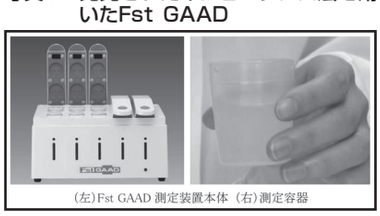
㈱マイクロブラッドサイエンス 研究開発部　西村 知晃、根本 翔太

Fst GAAD(注)開発の経緯と技術的な成果

インピーダンス測定方式は、1970年代にUrらが細菌の液体培地中で電気的なインピーダンス変化が生じる[1]事を見出し、それらを機にリアルタイムにインピーダンス値の変化をモニタリングする測定システムが数多く開発されていた。本稿で紹介する装置「Fst GAAD」（**写真1**）はそのインピーダンス法を利用し、食品製造現場で誰でも使える簡易検査装置として開発したもので、臨床検査へのアプリケーションをユーザーフレンドリーで迅速な簡易計測を行うべく、非常にシンプルに設計がされている。卓上型筐体（421W×242H×242Dmm、10kg）で、5個の測定ユニットを持ち、筐体内に中温状態で保持できる恒温槽を備え、結果はタイマーとして使用するエレベータLEDランプと、警告を知らせるブザーを用いて、現場に知らせる仕組みになっている。装置内には測定データのバックアップ機能を有し、パソコンにつなげる事で過去約1カ月分のデータの読み出しが可能になっている。インピーダンス測定に使用する容器は、電極と溶液界面での電極効果が再現性を悪くする要因となる[2]ため、よく使用されていた二電極法から原理的にその要因を解決できる四電極法を採用した。サンプルとして使用する食品の組成や温度環境要因等の影響を除外すべく、差分式インピーダンス法を採用している。また過去に蓄積された微生物増殖のデータパターンを予測アルゴリズムとしてFst GAAD本体に搭載しており、これにより増殖によるインピーダンス値変化が得られる前に菌数の判定を行うことができるため、更に迅速に判定が行えることになる。そしてなによりも微生物が増殖する過程、すなわち生菌の増殖を判断指標として使用できるコンセプトになっている。

培養法でコロニーを見る為には、寒天平板培地上に播種できる容量がせいぜい200μl程度と非常に少ないため、回収されたサンプリング溶液のほとんどは無駄になってしまう問題もあった。一方、Fst GAADで使用する測定容器は40mlと非常に大きな容量になっているため、回収されたサンプリング溶液を十分に測定に使用できる。そのため回収された微生物の濃度は同じではあるものの、食品組成がインピーダンス測定に影響を起こすなどの理由がなければ希釈する必要がないため、非常に効率的で有用なサンプリング法と考えられる。

写真1　発売されたインピーダンス法を用いたFst GAAD



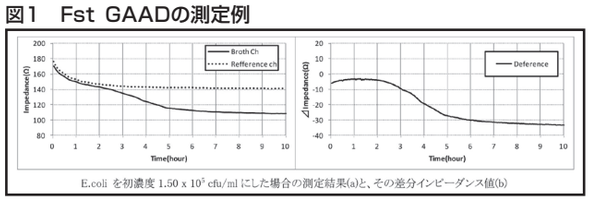
（左）Fst GAAD 測定装置本体（右）測定容器

測定事例

本装置での測定例を紹介する。一般生菌用粉体培地（Cat.Fst-1000P/M, DAIICHIKOSHO）のマニュアルに従い、培地溶液を作成。細菌株は、*Escherichia coli*（NBRC 3301）および*Salmonella enterica*（NBRC 100797）を用いた。その培養溶液で*E.coli*および*Salmonella enterica*を一晩培養し、測定に用いる各菌種溶液をそれぞれ10^2～10^7cfu/mlになるように使用する培養溶液で適宜希釈。細菌濃度の各培養溶液を、40mlずつ分注した。参照測定用の容器には、ポリヘキサメチレンビグアナイドハイドロチオライド（PHMB）を主成分とするFst用検査用抗菌剤（Cat. Fst-K, DAIICHIKOSHO）を2～3滴供した。

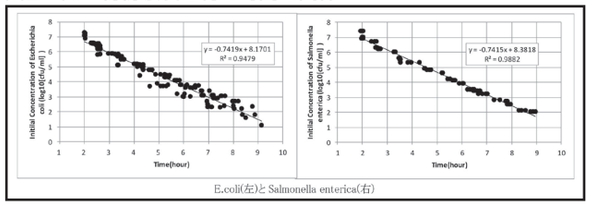
図1は、*E.coli*（NBRC 3301）で実施した測定図を示す。点線（Reference ch）は抗菌剤を入れた大腸菌を含む培地溶液、実線（センシング測定）は抗菌剤を入れない大腸菌希釈培地溶液の測定結果になる。それぞれの溶液には1.5×10^5cfu/mlになる同じ培地溶液を分注している。測定開始後1時間までインピーダンス値が減少しているが、これは常温に保管している培地から中温状態（36℃）までに温度変化をモニターしている様子である。培養測定側（Broth ch）においては、プラトー状態になった状態から2時間目に徐々に減少し始め、やがて再度プラトー状態に達し、約30Ω程度の変化幅ができた。他方、参照測定側においては、抗菌剤の添加により事後のインピーダンス変化は殆ど見られなかった。それらの差分インピーダンス値は、測定シグナルが阻害される影響が取り除かれ、非常にきれいな増幅曲線が描

図1　Fst GAADの測定例



E.coli を初濃度 1.50 x 10^5 cfu/ml にした場合の測定結果(a)と、その差分インピーダンス値(b)

図2　微生物初濃度と判定時間の関係



E.coli(左)と Salmonella enterica(右)