

# CDA-1000 による細菌測定

## 1. はじめに

細菌は研究開発から産業利用まで幅広い分野で利用されている。

培養液あるいは懸濁液に含まれる細菌数を知る方法として、寒天培地に形成されたコロニー計数、濁度計による測定などが知られているが、培養に時間がかかる、測定精度が低いなどの問題があり、迅速且つ正確に細菌数を測定する方法が望まれている。

CDA-1000 では、25 $\mu$ m アパチャーを用いることにより、0.5~15 $\mu$ m (最大範囲) の粒子測定が可能である。そこで、細菌測定を試みたので紹介する。

## 2. 試料

細菌を液体培地および寒天培地で 24 時間培養 (35 $^{\circ}$ C) した後、セルパックで 10<sup>5</sup>/mL 程度に調製した試料を測定試料とした。

<注意>

3 $\times$ 10<sup>6</sup>/mL 以上の高濃度試料では、同時通過等の影響から数え落としが起こるので、測定試料の濃度調整時に注意が必要である。

## 3. 測定

装置条件は次の通り。

- アパチャー：25 $\mu$ m (セルパック仕様)
- X 軸：粒子径
- 分析量：50 $\mu$ L

## 4. 結果と考察

各試料中の細菌は、上記装置条件の測定範囲内に明瞭な粒度分布を示しており、測定上大きな問題は無いと推察される。

以下 (4-1~4-3) に示すように、細菌の種類 (大腸菌、黄色ブドウ球菌、緑濃菌)、培養法並びに測定試料調製方法によって、粒度分布の異なることが明らかとなった。(詳細は各図の説明を参照)

### 4-1 大腸菌

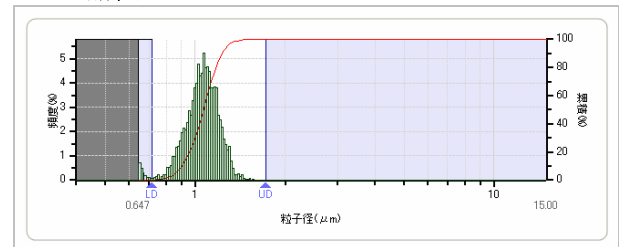


図 1-1 大腸菌 (液体培地)

液体培地で培養した大腸菌液をセルパックで希釈した試料を測定した。

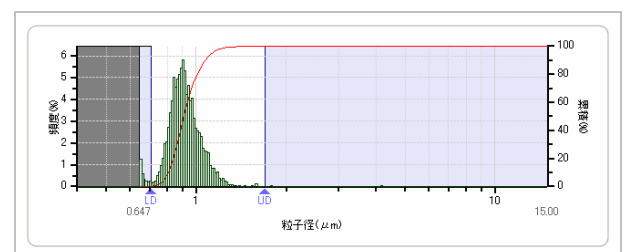


図 1-2 大腸菌 (寒天培地)

寒天培地で培養した大腸菌液をセルパックに懸濁させて測定した。

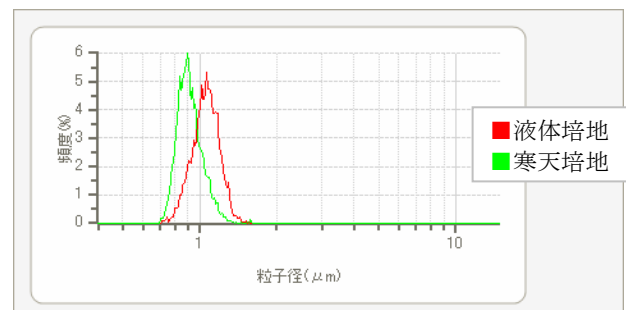


図 1-3 大腸菌 (重ね合わせグラフ)

寒天培地で培養した大腸菌の粒度が左側 (小径側)、液体培地で培養した大腸菌が右側 (大径側) に分布している。

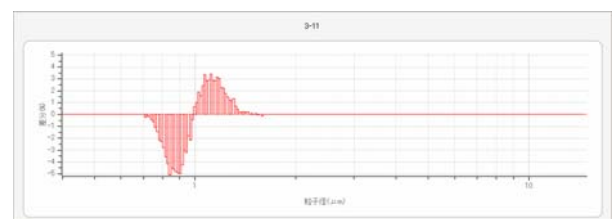
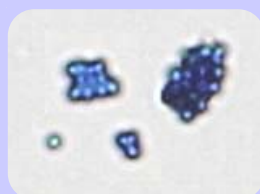


図 1-4 大腸菌 (差分グラフ)

二つの試料の差分グラフを表示する機能を用いると、液体培地で培養した場合の粒度分布 (図 1-3 の赤) から寒天培地で培養した場合の粒度分布 (図 1-3 の緑) を差し引いた場合の差分グラフは図 1-4 のようになる。2 試料の分布の差異を重ね合わせと別の視点から確認することができる。



大腸菌、黄色ブドウ球菌の顕微鏡写真

## 4-2 黄色ブドウ球菌

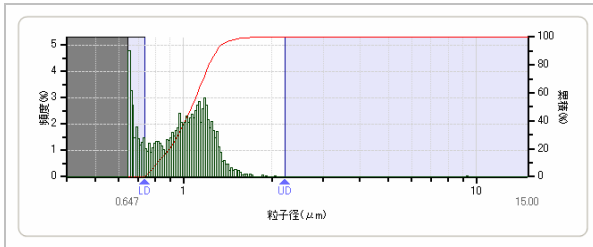


図 2-1 黄色ブドウ球菌 (液体培地)

液体培地で培養したブドウ球菌液をセルパックで希釈した試料を測定した。

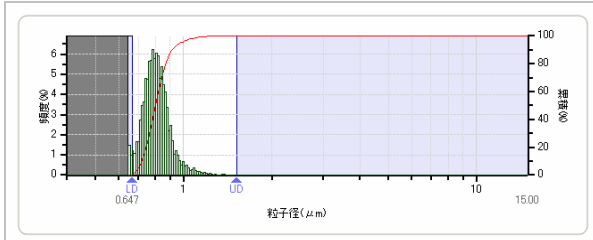


図 2-2 黄色ブドウ球菌 (寒天培地)

寒天培地で培養したブドウ球菌をセルパックに懸濁させて測定した。

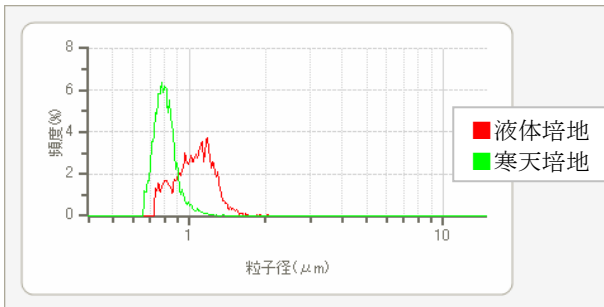


図 2-3 黄色ブドウ球菌 (重ね合わせグラフ)

寒天培地培養の粒度分布 (緑) が単峰性粒度分布を示したのに対して、液体培地培養の分布は右 (大粒子径) 側に分布を示した。試料調製時に寒天培地上のコロニーを綿棒でかき取って菌塊を容器に擦りつけながらセルパックに分散させる場合と、液体培地培養菌液をミキサーとピペティングで取り扱った場合の菌塊サイズの違いであると推察する。

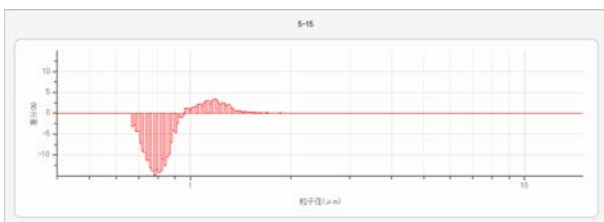


図 2-4 黄色ブドウ球菌 (差分グラフ)

寒天培地培養 (図 2-3 赤) と液体培地培養 (図 2-3 緑) の差分グラフを示す。

## 4-3 緑濃菌

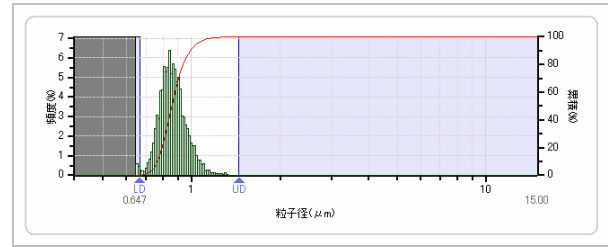


図 3-1 緑濃菌 (液体培地)

液体培地で培養した緑濃菌液をセルパックで希釈した試料を測定した。

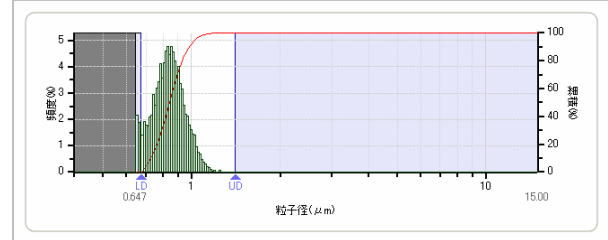


図 3-2 緑濃菌 (寒天培地)

寒天培地で培養した緑濃菌をセルパックに懸濁させて測定した。

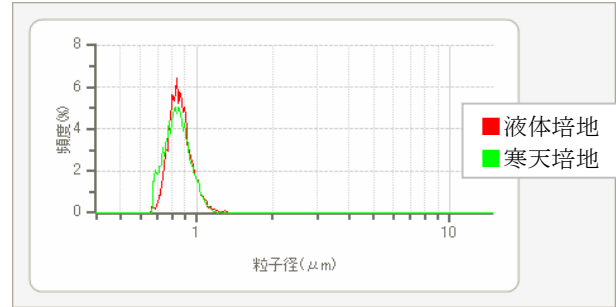


図 3-3 緑濃菌 (重ね合わせグラフ)

液体培地と寒天培地の粒度がほぼ同じ分布を示した。

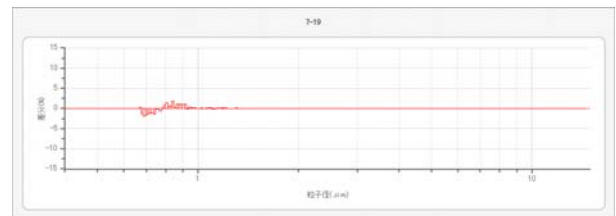


図 3-4 緑濃菌 (差分グラフ)

寒天培地培養した緑濃菌 (図 3-3 赤) と液体培地培養した緑濃菌 (図 3-3 緑) の差分グラフを示す。粒度分布にほとんど差の無いことがわかる。

今回紹介した CDA の測定性能、解析機能が、細菌分野で活用されることを期待する。

発行 : シスメックス株式会社 科学計測事業部

〒651-2271 神戸市西区高塚台 4 丁目 4 番地の 4

Tel. (078) 991-2091 Fax (078) 997-9976

URL : <http://www.sysmex.co.jp/labscience/>

Published by : SYSEMEX CORPORATION SCIENTIFIC INSTRUMENTATION BUSINESS DIV.

Copyright © 2010 by SYSEMEX CORPORATION

No part of this publication may be reproduced without the prior the written permission of the publisher.

Printed in Japan.

本誌の内容を無断で複写・複製・転写すると、著作権・出版権の侵害となることがありますのでご注意ください。