

微生物迅速検査装置 Lumione 測定例の紹介(その1)

微生物迅速検査装置Lumioneは、微生物1個に含まれる極めて少量のATP（アデノシン三リン酸）を測定することで、微生物の有無を検出する装置です。現在広く用いられている培養法とは異なり、培養なしで測定することで最速1時間で微生物汚染の確認が可能です。



微生物迅速検査装置
Lumione BL3000

本資料では、各種市販の製品をLumioneと従来の培養法で測定した結果をご紹介します。

市販ミネラルウォーターの測定例

■ 比較試験

【方法】

市販ミネラルウォーターをLumione濃縮ろ過法と培養法（メンブレンフィルター法）で測定（n=4）しました。

【結果】

サンプル	試料量	ATP量 (amol)				平均 (amol)	培養法による コロニーカウント数(CFU)			平均 (CFU)
1	100 mL	-0.1	-0.1	-0.2	0.0	-0.1	0	0	0	0
2	100 mL	0.4	-0.2	-0.2	-0.1	0.3	0	0	0	0
3	100 mL	-0.1	-0.1	-0.2	0.2	-0.1	0	0	0	0
4	100 mL	-0.2	-0.2	-0.2	-0.2	-0.2	0	0	0	0
結果	ATPIは検出されなかった。 (菌由来のATPIは検出されなかった。)					菌は検出されなかった。 (コロニーは形成されなかった。)				
結果判定に要した時間	前処理時間含め約2.5時間(16試験)					結果判定まで約7日間				

■ 菌添加試験（混入菌の検出可否）

【方法】

上記市販ミネラルウォーターに、*Methylobacterium extorquens* (NBRC15911)（水性細菌）を20 CFU/mL狙いで添加し、菌が混入していた場合に菌検出可能か確認しました。

【結果】

サンプル	試料量	ATP量 (amol)				平均 (amol)	培養法による コロニーカウント数(CFU)			平均 (CFU)
1	100 mL	7.8	17.9	19.3	16.3	15.3	23	17	12	17
2	100 mL	13.1	12.1	11.2	9.8	11.6	15	12	21	16
3	100 mL	18.9	14.7	22.8	22.1	19.6	22	18	27	22
4	100 mL	11.5	24.9	10.4	9.6	14.1	17	25	14	19
結果	菌の検出が確認された。 (菌由来のATPIが検出された)					菌の検出が確認された。 (コロニーの形成を確認した。)				
結果判定に要した時間	前処理時間含め約2.5時間(16試験)					結果判定まで約7日間				

培養法（メンブレンフィルター法）と比較し、菌由来のATPIを検出することで短時間（7日→数時間）で微生物の有無を検出可能でした。

測定手法/前処理方法はPage.4を参照ください。

製薬用水の測定例

【方法】

製薬用水の原料となる水道水と精製水についてLumione濃縮ろ過法にてATP量を測定し、同時に培養法(メンブレンフィルター法)によりコロニー数を確認しました。

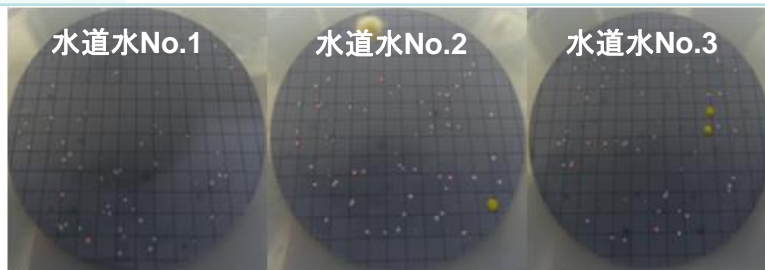
【結果】

水道水ではATP法と培養法の両方に菌が検出され、精製水では両方とも菌が検出されず、ATP法と培養法で相関のある結果が得られました。

■ 水道水

水道水のATP法と培養法の比較

	検査	評価	平均
No.1	ATP法(本装置)	434, 487 amol	461 amol
	培養法	77, 81 CFU	79 CFU
No.2	ATP法	1017, 1352 amol	1185 amol
	培養法	65, 67 CFU	66 CFU
No.3	ATP法	556, 497 amol	526 amol
	培養法	66, 67 CFU	67 CFU

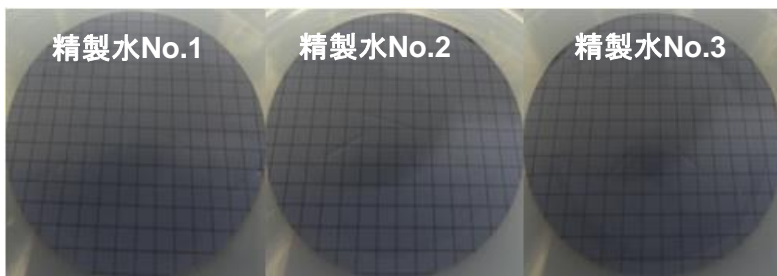


メンブレンフィルター法

■ 精製水

精製水のATP法と培養法の比較

	検査	評価	平均
No.1	ATP法(本装置)	0.1, 0.0 amol	0.1 amol
	培養法	0, 0 CFU	0 CFU
No.2	ATP法	-0.2, 0.0 amol	-0.1 amol
	培養法	0, 0 CFU	0 CFU
No.3	ATP法	-0.1, 0.0 amol	0.0 amol
	培養法	0, 0 CFU	0 CFU



メンブレンフィルター法

培養法(メンブレンフィルター法)と比較し、菌由来のATPを検出することで短時間(7日→数時間)で微生物の有無を検出可能でした。

測定手法/前処理方法はPage.4を参照ください。

医薬品の測定例

【方法】

医薬品(輸液剤・透析液・注射剤)自体に含まれるATP量を濃縮ろ過法で測定しました。
 医薬品中に菌が存在した場合、菌のATP内包量が著しく減少しないかを確認するため、*Bacillus subtilis* (ATCC6633) (枯草菌)を添加し、濃縮ろ過法および培養法を実施して、1菌あたりのATP内包量 (amol/CFU)を求めました。

【結果】

各医薬品のATP量および枯草菌添加試験におけるATP内包量

検査対象		医薬効果	pH	ATP量 (amol)	添加菌の ATP内包量 (amol/CFU)
輸液	代用血漿増量剤	血流改善・体外循環灌流液	約4.5	0.3	4.6
		代用血漿・体外循環希釈剤	5.0~7.0	0.7	4.6
	高カロリー輸液	高カロリー輸液	約5.3	0.0	2.8
透析液	透析剤 A	人工腎臓透析薬	4.5~4.9	-0.1	3.5
	透析剤 B	人工腎臓透析薬	8.3~8.4	0.3	2.3
注射液	注射剤	パントテン酸欠乏症治療薬	4.5~6.5	0.2	4.7
		利尿降圧剤	8.6~9.6	0.1	2.0
		血管強化・止血剤	5.5~6.2	0.4	4.2
	抗生剤	外用抗生物質製剤	6.0~7.0	0.1	1.5
		合成セファロスポリン系抗生物質	4.5~6.5	0.1	3.9
	バイオ医薬	インスリン注射液	7.0~7.8	0.1	1.4
		腎性貧血治療薬	5.5~6.5	-0.1	2.9

- 医薬品を濃縮ろ過法にてATP量を測定したところ、いずれも1amol未満という結果が得られました。
- 医薬品に枯草菌を添加して同様に濃縮ろ過法を実施した結果、医薬品によって差異はありましたが、ATP内包量の著しい低下は見られず、枯草菌を検出することが可能でした。
- 培養法(塗布法)よりも短期間(5日→1日)で微生物の有無を検出可能でした。

測定手法/前処理方法はPage.4を参照ください。

Lumione 濃縮ろ過法

■ 濃縮ろ過法の測定原理および手順



- 試料をフィルタアセンブリで吸引ろ過します。
✓ 数mL以上の試料の場合、別途販売の100 mL用ファンネルをフィルタアセンブリに接続してろ過します。製薬用水100 mLでは10分程度でろ過可能です。
- 活性消去液をフィルタ内に添加し、37°Cのブロックヒーターで40分インキュベーションします。
✓ この工程で試料中に混入したATPを分解し、また芽胞菌を発芽・活性化させます。
- 洗浄液で洗浄して、遠心ろ過により残った洗浄液を除去します。
- フィルタアセンブリのカバーを外し、フィルタ部のみを計測チューブに乗せてATP抽出液を添加します。
- 室温で5分静置して生菌からATPを抽出し、遠心ろ過によりATP抽出試料を計測チューブに回収します。
- 計測チューブを計測ラックにセットしてLumioneにて発光測定します。測定時間は1試料当たり約2.5分です。

■ 濃縮ろ過法の測定対象例

Lumione 濃縮ろ過法で測定可能な試料を紹介します。ろ過可能な試料のみ対象となります。

試験内容	目的	測定対象例	
微生物試験	品質管理	医薬品	常水・精製水・注射用水 医薬中間品 設備洗浄水
		飲料	設備・容器洗浄水
	出荷試験	製薬・医療部材	輸液剤・透析液・注射剤
		飲料, 食品材料	清涼飲料水 (ミネラルウォーター・アルコール飲料)
		衛生材・化粧品	除菌シート・メイク落としシート・化粧水

注意: 本資料に掲載のデータは測定例を示すもので、性能を保証するものではありません。