

Application Note

メルクミリポアのロック機能付き ICR プラス 90mm プレート（SCD + LTHTh）を用いた 嫌気性環境菌モニタリング

カタログ番号：1.46683.0020 / 1.46683.0120

嫌気性環境菌のモニタリングは通常実施する試験とは異なりますが、ヒト由来のコンタミネーションに伴う嫌気性細菌を検出するために行われることがあります。

Propionibacterium acnes（アクネ菌）は一般的なヒト皮膚共生菌であるため、作業者の衛生状態を示す指標として用いることができます。さらにこれはバイオフィルム形成細菌としても知られ、除染（VHP 処理）されにくいと考えられています。この細菌は増殖速度が遅い嫌気性細菌で、通常は嫌気的な培養条件と長い培養時間を必要とします。

本試験の目的は、*Propionibacterium acnes* とその他の嫌気性細菌の増殖速度を上げるために推奨培養温度を上回る温度で培養したときの、メルクミリポアのロック機能付き ICR プラス 90mm プレート（SCD + LTHTh）の有効性を評価し、嫌気性環境菌のモニタリングの社内バリデーションをサポートすることです。

1. プレート形状の選択：ロック機能付き ICR+ プレートは、「VENT」の位置に固定されることで、嫌気チャンバーの空気とプレート内の空気を効果的にガス交換でき、再現性のある増殖条件が確保されます。ロック機能のないプレートを使ったり、「CLOSED」の位置に固定する場合は、条件が一貫しない可能性があります。
2. 培地の選択：この試験では、特定の嫌気性細菌の増殖を、ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト・カンテン培地に、中和剤であるレシチン、Tween® 80（Croda Americas LLC, Wilmington, Delaware, US）、ヒスチジンおよびチオ硫酸ナトリウムを添加した培地上（SCD + LTHTh ICR+ プレート）で検討しました。この培地は嫌気性環境菌モニタリングに多く使用されており、本試験において、本製品が好気および嫌気モニタリングの両方に使用可能な培地であることを評価しました。
3. 培養時間の選択：USP<1116> など様々なガイドラインでは、環境モニタリングには 20 ～ 35℃の温度が推奨されています。本試験では、37℃という高い培養温度での特定細菌の増殖を、その培養所要時間との関連において検討しました。

材料および方法

試験株の前処理と培養

試験菌の1コロニーをブレインハートインフュージョン培地中に移し、34℃で16～18時間培養しました。試験株の新鮮増殖培地をNaClペプトン緩衝液中に希釈し、標準プレート上で10～100 CFUの値になるよう接種液を調整しました。BioPlater™ 5000 (BioSys GmbH) を用いて接種液を標準（対象）プレート（3枚）と試験プレート（2枚）に接種しました。

培地

製品名	カタログ番号	バッチ番号
SCD + LTHTh ICR+	146683	130176
コロンビア血液寒天（100% 標準品）	146559	130343

細菌株

菌株	増殖パターン
<i>Clostridium sporogenes</i> ATCC 19404	嫌気性菌
<i>Clostridium sporogenes</i> ATCC 11437	嫌気性菌
<i>Propionibacterium acnes</i> ATCC 11827	嫌気性菌
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	嫌気性菌
<i>Corynebacterium macginleyii</i> 社内分離株	通性嫌気性／好気性菌

培養条件

温度：30℃または37℃

測定期間：5、7、10日間

雰囲気：嫌気（80% N₂、10% CO₂、10% H₂）

30℃で培養した結果

表1：SCD + LTHTh ICR+（VENT）を用いた、30℃の嫌氣的培養下での細菌回収率およびコロニーサイズ

菌株	CFU（対象）	CFU	回収率（%）	コロニー径（mm）		
				5日後	7日後	10日後
<i>C. sporogenes</i> ATCC 19404	73/96/90 Ø 86	76/97	101	7 – 10	N/A	N/A
<i>C. sporogenes</i> ATCC 11437	48/49/59 Ø 52	56/52	104	5.5 – 10	N/A	N/A
<i>P. acnes</i> ATCC 11827	64/83/87 Ø 78	74/64	89	0.4	1.0 – 1.1	1.5
<i>B. fragilis</i> ATCC 25285	51/59/68 Ø 59	75/52	108	0.4 – 0.5	1.4 – 1.5	1.9 – 2.0
<i>C. macginleyii</i> (社内分離株)	54/59/56 Ø 56	44/51	85	1.9	2.2 – 2.3	2.8 – 3.0

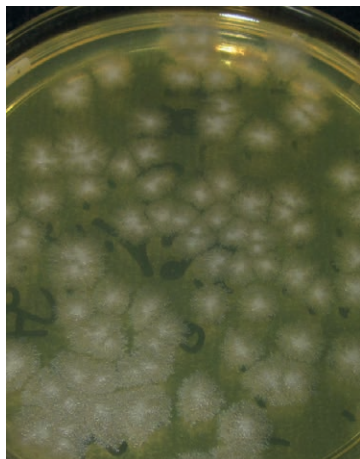


図 1 : *C. sporogenes* ATCC 19404



図 2 : *C. sporogenes* ATCC 11437

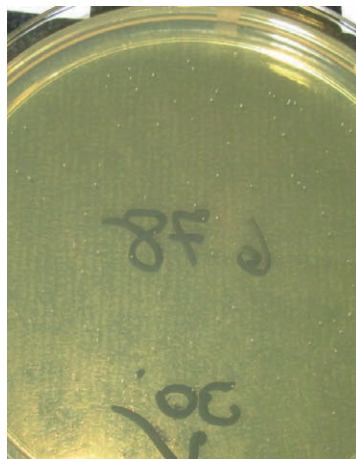


図 3 : *P. acnes* ATCC 11827

図 1 ~ 5 :
SCD + LTHTh ICR+ -
30℃で 5 日間培養

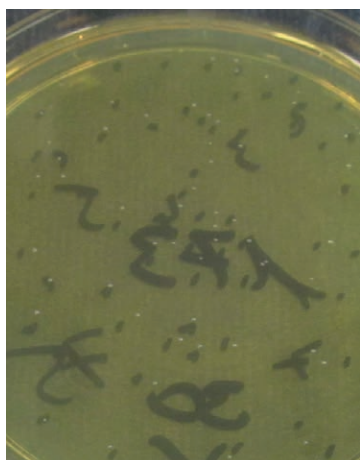


図 4 : *B. fragilis* ATCC 5285



図 5 : *C. macginleyii*



図 6 : *P. acnes* ATCC 11827

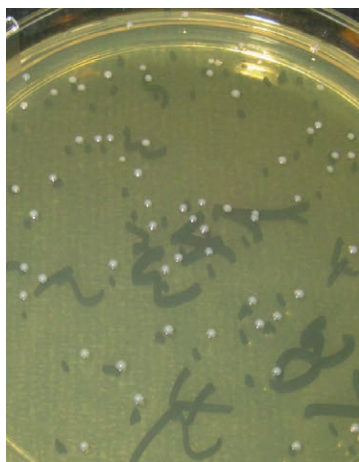


図 7 : ATCC 25285

図 6 ~ 7 :
SCD + LTHTh ICR+ -
30℃で 7 日間培養

37℃で培養した結果

表 2：SCD + LTHTh ICR+ (VENT) を用いた、37℃の嫌氣的培養下での細菌回収率およびコロニーサイズ

菌株	CFU (対象)	CFU	回収率 (%)	コロニー径 (mm)		
				5 日後	7 日後	10 日後
<i>C. sporogenes</i> ATCC 19404	(111) / 78/98 $\phi = 88$	99/97	112	6 – 11	N/A	N/A
<i>C. sporogenes</i> ATCC 11437	42/56/47 $\phi = 48$	58/47	110	5.5 – 12	N/A	N/A
<i>P. acnes</i> ATCC 11827	137/119/140 $\phi = 132$	169/155	116	1.1	1.8	1.8
<i>B. fragilis</i> ATCC 25285	54/70/64 $\phi = 63$	72/64	118	2.0 – 2.1	2.6 – 2.7	3.0 – 3.2
<i>C. macginleyii</i> (分離株)	$\phi = 45$	42/51	103	1.8	2.5 – 2.8	2.8 – 2.9

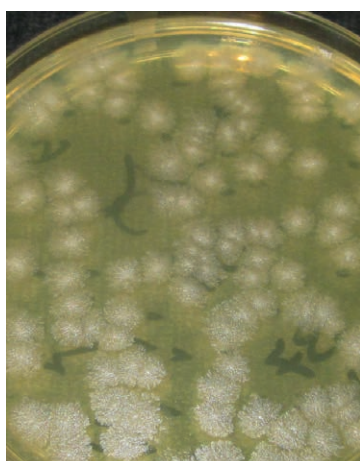


図 8： *C. sporogenes* ATCC 19404

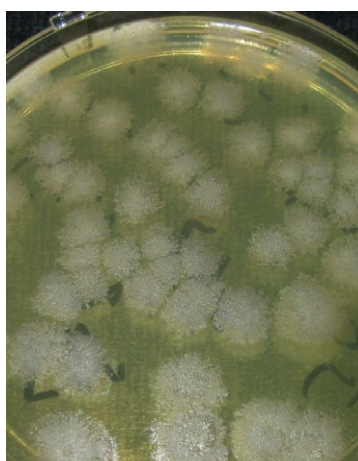


図 9： *C. sporogenes* ATCC 11437

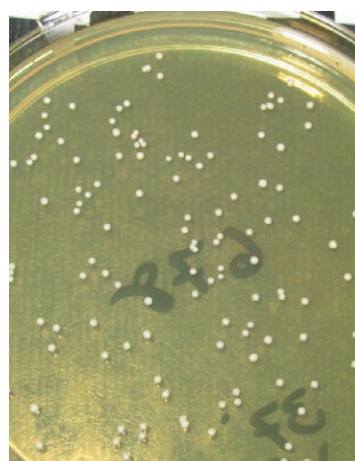


図 10： *P. acnes* ATCC 11827

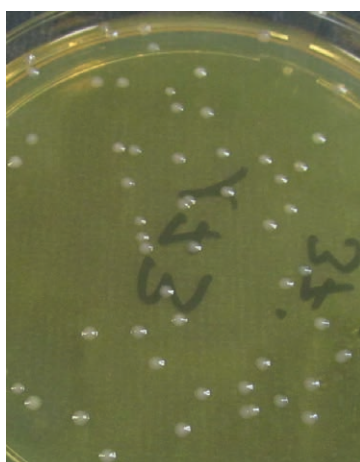


図 11： *B. fragilis* ATCC 25285



図 12： *C. macginleyii*

図 8～12：
SCD + LTHTh ICR+ -
37℃で 5 日間培養

結論

今回選択したすべての細菌で、嫌気条件下で培養した際にそれぞれの培養時間で 50% を上回る回収率が得られました。温度を 30℃ から 37℃ に上げたとき、*Bacteroides fragilis* と *Propionibacterium acnes* については回収率を上げることが可能となることを確認しました。*P. acnes* と *B. fragilis* について適切なコロニーサイズを得るためには、30℃ では 7 日間が必要でしたが 37℃ では既に 5 日目で容易に検出できるコロニーが形成されました。*Clostridia* と *Corynebacterium macginleyii* については、培養温度を 37℃ に上昇させても増殖率は有意に上昇しませんでした。これは、両細菌が 30℃ と 37℃ の両方の培養温度で、5 日間の培養によりすでに容易に検出可能であったためです。

本試験により、SCD + LTHTh は、より一般的に使用されているチョコレート寒天 + LTH - ICR+（カタログ番号 146686）に比べ、特定の嫌気性細菌の検出に適していることが実証されました。特に *P. acnes* は、チョコレート寒天 + LTH 培地で 30℃ と 37℃ で培養したときの増殖速度が遅く（30℃ ではコロニーを視認できるまでに 7 日超を要します。データ表示せず）、SCD + LTHTh に比べて小さいコロニーが形成されることが知られています。

最新の製品・技術・展示会・セミナー等の情報を毎月配信！



メルクミリポア E-メールニュース
<http://www.merckmillipore.jp/wm>

本紙記載の製品構成は諸般の事情により予告なく変更となる場合がありますのであらかじめご了承ください。

本文中のすべてのブランド名または製品名は特記なき場合、Merck KGaA の登録商標もしくは商標です。Merck Millipore and the M mark are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany.

メルク株式会社

メルクミリポア プロセスソリューションズ事業本部

〒153-8927 東京都目黒区下目黒1-8-1 アルコタワー5F

製品の最新情報はこちら www.merckmillipore.jp

お問合せ▶On-Line:www.merckmillipore.jp/jpts Tel: 0120-013-690 Fax: 03-5434-4827

[AN2005JA00]1508-PDF/H