

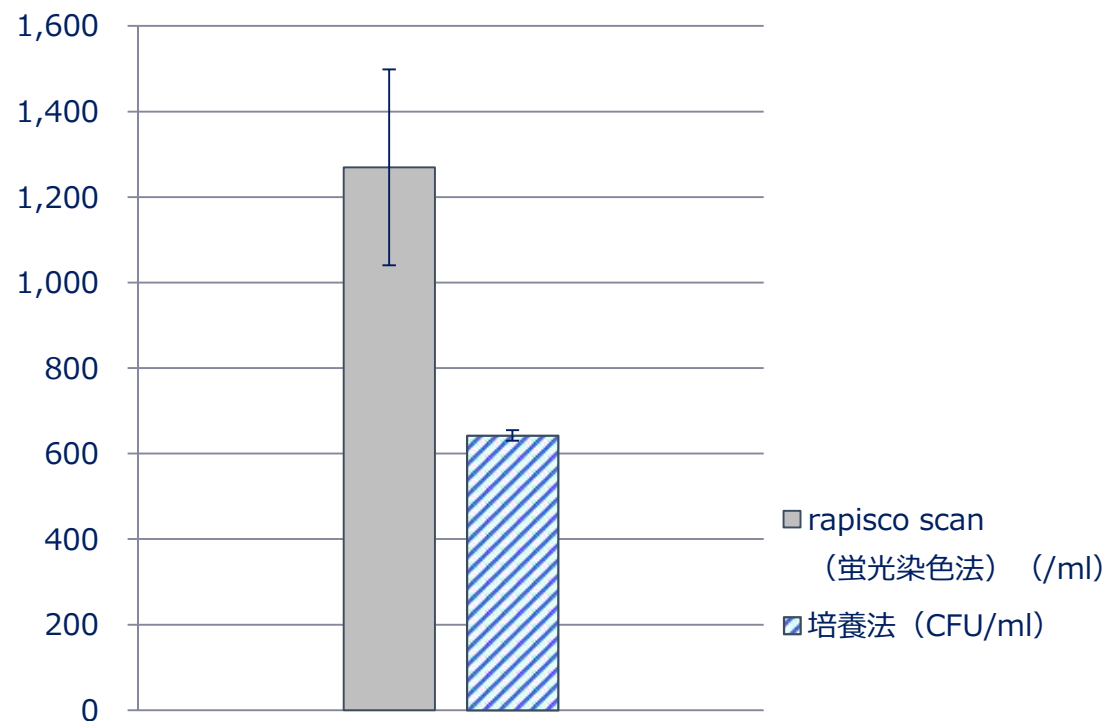
# 解析ビューア **AVS-R** を用いた検出事例 【芽胞形成菌 (*Bacillus subtilis*)】

株式会社シバサキ  
技術開発グループ

# 蛍光染色法と培養法の乖離について

【検体】：芽胞形成菌 (*Bacillus subtilis*) (栄研)

検体を同一濃度に調製して得られた蛍光染色法と培養法の結果



\*蛍光染色法はrapisco scanでの検出結果。  
検出サイズ | 細菌サイズ (4~100)

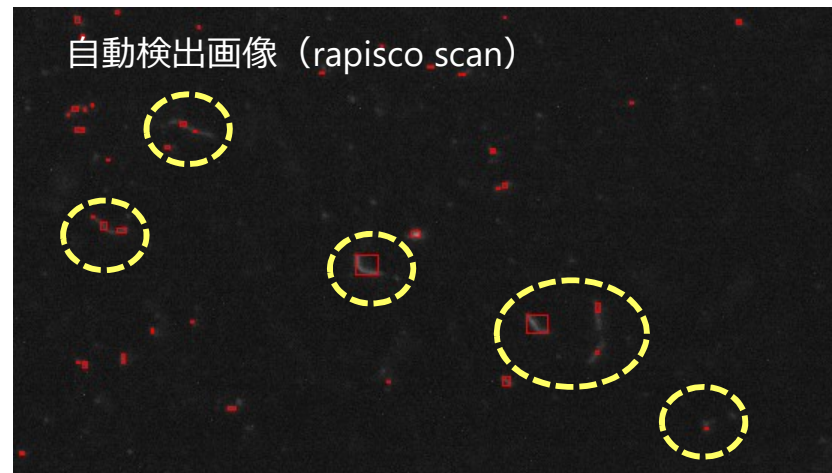
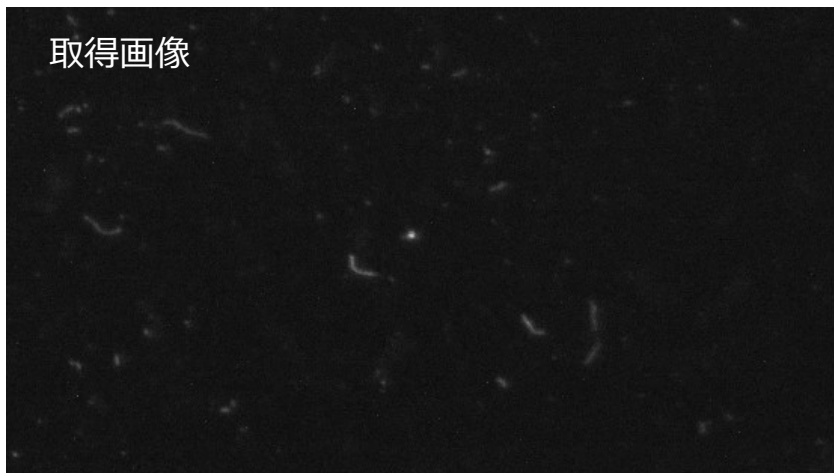
● 蛍光染色法の検出数が培養法に対して約2倍の差がある。

→ 芽胞形成菌の取得画像を乳酸菌と比較した。

# 蛍光染色法と培養法の乖離について

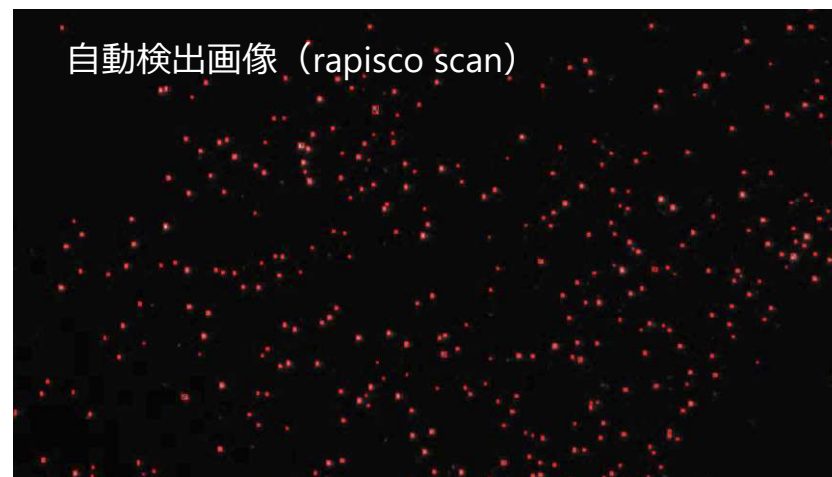
\*取得画像および自動検出画像に画像処理を施し、それぞれの画像の一部を拡大した。

【検体】：芽胞形成菌 (*Bacillus subtilis*) (栄研)



- 線状に伸長した細胞や夾雑物由来と思われる光点が観察された。

【参考検体】：乳酸菌 (*Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum*)



- 線状の細菌や目立った夾雑物は見られず、光点も明るく、同一形状である。

# 蛍光染色法と培養法の乖離について

- 蛍光染色法 (**rapisco**) の結果から、用いた芽胞液には
  - ①線状に伸長した細胞や②夾雑物が存在し、それらも検出対象に含まれた状態で自動検出されていた。

① 伸長した細胞は栄養状態が悪いことが多い。

→ 形態異常を起こした細胞はコロニー形成能が低いと推測されるため、  
蛍光染色法と培養法との間に乖離が生じたと考えられる。

② 夾雑物は検体由来の不純物やタンパクが影響していると考えられる。

→ 芽胞状態の細胞は染色されにくいいため、全体を明るい条件で撮影している。

→ 様々な夾雑物が検出されやすい状態であったと考えられる。



①、②由来の検出を抑えるための画像処理の条件検討を行った。

# 蛍光染色法と培養法の乖離について

---

- 解析ビューア **AVS-R** を用いて、rapisco scanでの取得画像を以下の条件で再解析した。

【条件①】形態異常を起こした細胞をカウントしないように、  
検出サイズの範囲を任意設定により狭くした。

細菌サイズ（4~100） ⇒ 任意設定（4~30）

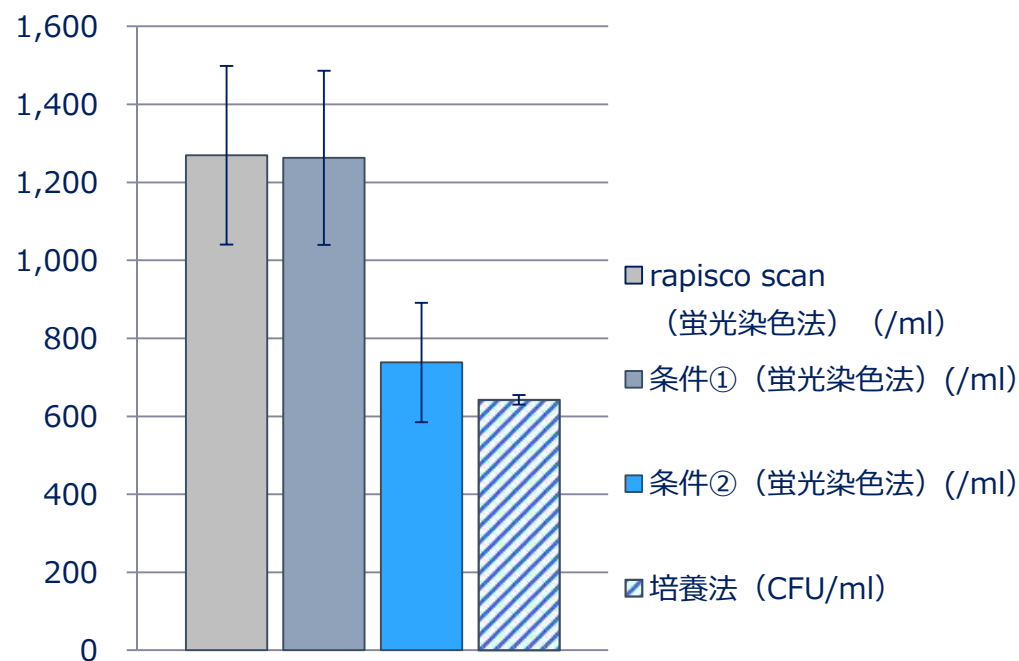
【条件②】上記に加えて夾雑物由来の検出を抑えるために  
次の画像処理を施した。

むら補正・ノイズ除去

# 蛍光染色法と培養法の乖離について

【検体】：芽胞形成菌 (*Bacillus subtilis*) (栄研)

検体を同一濃度に調製して得られた蛍光染色法と培養法の結果



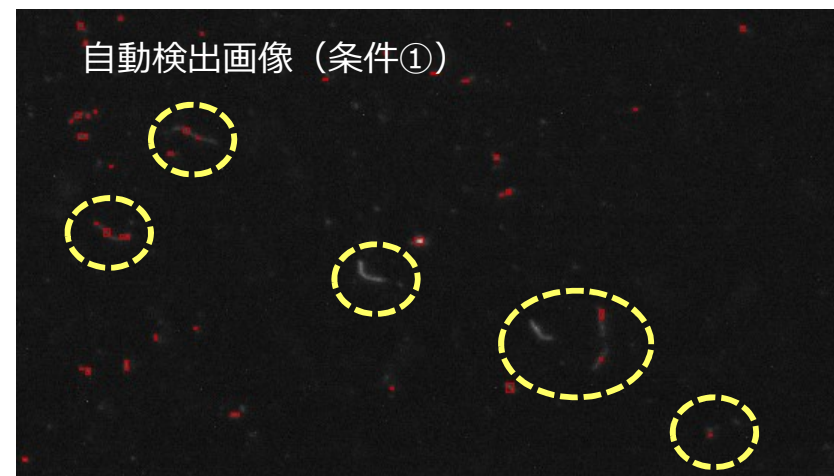
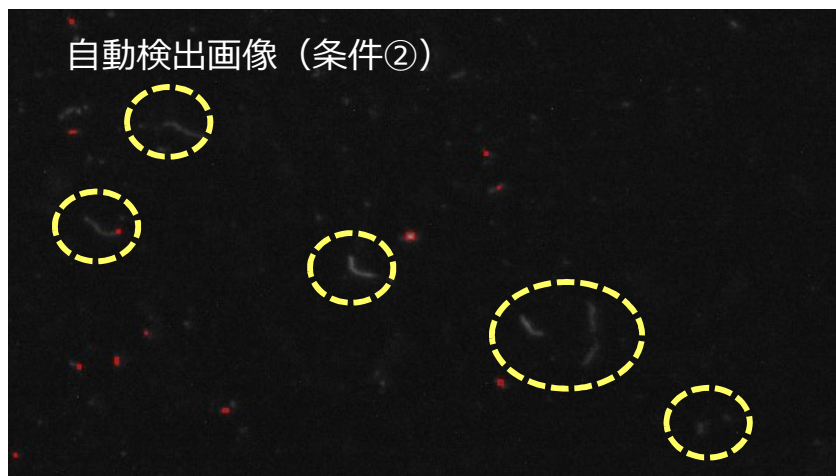
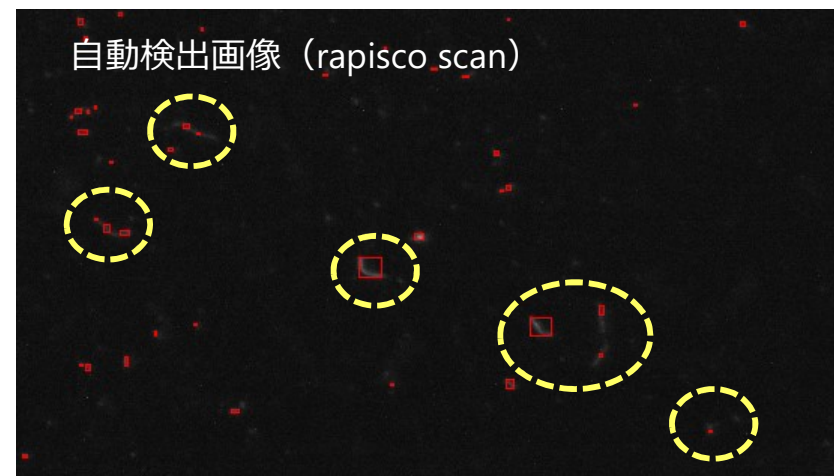
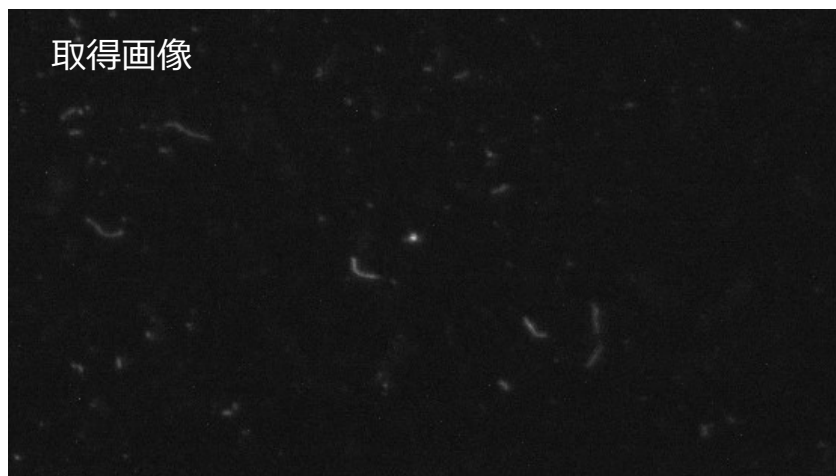
- ・ rapisco scan | 検出サイズ：細菌サイズ (4~100)
- ・ 条件① | **AVS-R**での再検出\_検出サイズ：任意設定 (4~30)
- ・ 条件② | 条件① + **AVS-R**での画像処理\_むら補正・ノイズ除去

● 再解析により、条件②では培養法との乖離が1.1倍程度まで軽減された。

# 蛍光染色法と培養法の乖離について

\*取得画像および自動検出画像に画像処理を施し、それぞれの画像の一部を拡大した。

【検体】：芽胞形成菌 (*Bacillus subtilis*) (栄研)



● **AVS-R**での再解析により線状に伸長した細胞や、夾雑物由来の検出が抑制された。

# まとめ

---

- 蛍光染色法（**rapisco**）では光点の検出サイズを任意設定し、画像処理を施すことで培養法との乖離が軽減された。

## 【乖離が生じた原因】

→ コロニー形成能が低いと推測される線状に伸長した細胞や、夾雑物が確認された。

→ これらが染色され、カウントされるために培養法との乖離が生じた。

\* 単独菌種の検体であっても、コロニー形成できない細胞が含まれている場合は、rapisco scanの結果と培養法の結果が一致しない可能性がある。

\*\* 検出サイズの任意設定や解析ビューア**AVS-R**での画像処理を組み合わせることで、光点の選択的な検出が可能である。