

## 蛍光染色法とディープラーニング画像処理技術を融合した新規微生物迅速検査法「FLOX-AI(フロックスアイ)」の開発

青柳 真人  
アサヒ飲料株式会社

### 1. 要約 (50 文字程度)

蛍光染色法とディープラーニング画像処理技術を融合し、簡便迅速で高性能な微生物検査が実現可能な新技術「FLOX-AI」の開発について報告する。

### 2. 目的

清涼飲料水製品の微生物検査は、一般的な検査法として用いられる通常培養法と特殊な検査装置を使った迅速検査法の2つの方法がある。通常培養法は微生物有無を判定するために3日～5日程度を要しており、最終判定は人の目視で行われることから、時間と労力を費やすという課題があった。一方、迅速検査法は微生物有無の判定を1日程度で可能とし、最終判定を自動で行うことができるが、作業工程が煩雑である場合や導入・運用コストが高額である場合等の課題があった。そこで本研究では、迅速性、簡便性、検出性能、コストの全てを満たす新規の微生物迅速検査法の開発検討を行った。

### 3. 方法

希釈調製した微生物（カビ、酵母、細菌）の孢子懸濁液を乳性酸性飲料、果実飲料、炭酸飲料、茶系飲料に接種しメンブレンフィルターを用いて所定量ろ過を行った。接種菌数はメンブレンフィルター1枚あたり10～30cfuに調製した。ろ過後のメンブレンフィルターを培地に貼付し、所定温度にて24時間培養を行った。培養後のメンブレンフィルターを剥がし、染色試薬EZ-Fluo Reagent Kit (Merck)を用いて蛍光染色を行い、蛍光撮像装置TM-LAB plus (楯屋)によって微生物のマイクロコロニーと夾雑物を含む蛍光撮像画像を取得した。次に取得した蛍光撮像画像における微生物あるいは夾雑物の色調や形状等の特徴をディープラーニング画像処理ソフトウェアVPDL (Cognex)によって深層学習し、メンブレンフィルター上の微生物有無を自動判定する学習済みモデルを生成した。続いて微生物が存在していると判定された画像中の菌数を計測し、通常培養法との比較結果から回収率を算出することで「FLOX-AI」の微生物検出性能の検証を行った。

### 4. 結果

乳性酸性飲料5品種および果実飲料5品種にカビ4種類を接種した検証結果において、「FLOX-AI」を用いた場合の微生物回収率の平均値は乳性酸性飲料が109%、果実飲料が95%であり、一般的な精度管理の指標値として知られる回収率70%を大きく超える結果であった。同様に、炭酸飲料3品種に酵母5種類を接種した検証結果、および茶系飲料5品種に細菌4種類を接種した検証結果において、「FLOX-AI」を用いた場合の微生物回収率は炭酸飲料が113%、茶系飲料が104%であった。また、微生物が存在しないにも関わらず陽性と判断される確率（偽陽性率）は全ての検体で0% (N=270)であり、適合率は100%であった。本結果から、新規微生物迅速検出法「FLOX-AI」は乳や果汁、あるいは茶や穀物の微粉末等の夾雑物を多く含む検体中の微生物有無を高感度かつ迅速に判定可能であることが示された。また、「FLOX-AI」では機器の立ち上げはコンピュータと蛍光撮像装置の電源を入れるだけで概ね完了し、検査作業については、培養後のメンブレンフィルターを蛍光染色し、蛍光撮像を行うだけで学習済みモデルが10秒以内に微生物有無を自動判定するため、培養から判定に至るまで非常にシンプルかつ簡便な手法である。