

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2016年11月10日(10.11.2016)



(10) 国際公開番号
WO 2016/178277 A1

- (51) 国際特許分類:
C12M 1/00 (2006.01) G01N 21/35 (2014.01)
C12Q 1/02 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2015/063129
- (22) 国際出願日: 2015年5月1日(01.05.2015)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (72) 発明者; および
- (71) 出願人: 宮下 光良(MIYASHITA, Mitsuyoshi)
[JP/JP]; 〒3510035 埼玉県朝霞市朝志ヶ丘4-1-1 Saitama (JP).
- (74) 代理人: 工藤 一郎(KUDO, Ichiro); 〒1000006 東京都有楽町1丁目7番1号有楽町電気ビル南館 Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN,

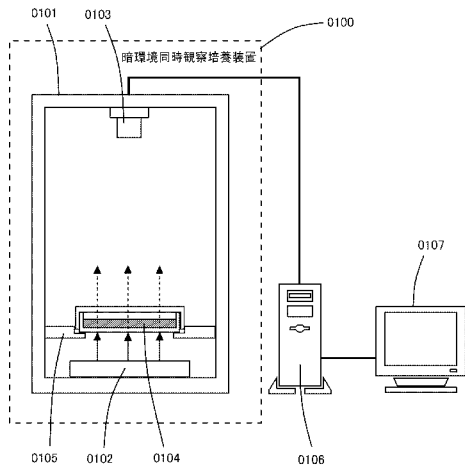
CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:
— 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

(54) Title: DARK-ENVIRONMENT SIMULTANEOUS CULTURING-OBSERVING APPARATUS

(54) 発明の名称: 暗環境同時観察培養装置



0100 Dark-environment simultaneous culturing-observing apparatus

(57) Abstract: [Problem] The speed of colony counting has been increased by performing colony counting by applying image processing or the like to an image in which an observation subject is captured. However, there is a demand for even further acceleration of colony counting. [Solution] In order to solve the above-described problem, the present invention provides, among others, a dark-environment simultaneous culturing-observing apparatus including: an observation-subject holding part for holding an observation subject; a dark-environment culturing chamber for culturing, in a dark environment, microbes in the observation subject held by the observation-subject holding part; an infrared light source that irradiates, with infrared light, the observation subject that is held by the observation-subject holding part accommodated in the dark-environment culturing chamber; and an infrared-light camera that captures an image of the observation subject irradiated with the infrared light by the infrared light source.

(57) 要約: 【課題】観察対象を撮影した画像に画像処理等を実施しコロニー計数を行うことで、コロニー計数の迅速化が図られている。しかしながら、より一層のコロニー計数の早期化が求められている。【解決手段】上記課題を解決するために、観察対象を保持するための観察対象保持部と、暗環境下で観察対象保持部に保持された観察対象の中の菌の培養を行うための暗環境培養室と、暗環境培養室内に納められる観察対象保持部に保持された観察対象を赤外光で照射する赤外光源と、赤外光源により赤外光を照射される観察対象の像を撮影する赤外光カメラと、を有する暗環境同時観察培養装置などを提供する。



WO 2016/178277 A1

明 細 書

発明の名称：暗環境同時観察培養装置

技術分野

[0001] 本発明は、食品衛生検査などにおけるコロニー計数を行うための技術に関する。

背景技術

[0002] 食品の製造販売等を行う事業者に対して、取り扱う食品について衛生指標菌の測定検査などが義務付けられている。例えば、一般生菌数は食品の検査対象 1 g 中に生存する微生物の数を表わし、食品の微生物汚染を計る指標として用いられている。一般生菌数の測定は、食品衛生法に基づく公定法においては、検査対象を寒天培地と混釈し 24 時間または 48 時間培養し、一般生菌が増殖して形成したコロニーの数を数えると定められている。このような検査対象には、例えば、清涼飲料水、氷菓、食鳥卵、飲用乳、乳製品などがある。

[0003] 上述した事業者等は、このような公定法に基づく検査と併せて、より早期に食品の安全性を確認するため自主的に検査を行っている。かかる自主検査において使用されるコロニー計数装置は、カメラで培地を撮影し、撮影画像から肉眼では確認できない程度の微小なコロニーを、画像処理プログラムや画像認識プログラム等をコンピュータに実行させることで検出する。これにより、24 時間または 48 時間といった長期の培養期間を要することなくコロニー計数を迅速に行うことを可能とする。このようなコロニー計数装置として、例えば、特許文献 1 に記載の技術がある。

先行技術文献

特許文献

[0004] 特許文献 1：特開 2012-75409 号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

- [0005] 特許文献 1 に記載の技術は、白色光を培地に照射し、培地を透過した光による像からコロニーを識別してコロニー計数を行うものである。より具体的には、培地においてコロニーが生じている部分と生じていない部分とで照射した白色光の透過量に差異が生じ、撮影された画像においてはその差異が濃淡として表れる。そして、その濃淡が表れた画像に対して二値化処理やグレースケール処理を施して濃い部分をコロニーとして抽出しコロニー計数を行う。このように撮影画像に画像処理を施してコロニー計数を行うことにより、従来の目視によるコロニー計数と比較して迅速化が図られている。
- [0006] ところで、これまでのコロニー計数は、図 1 2 に示すように培養開始から 1 2 時間後、1 8 時間後、2 4 時間後などの所定の経過時間の到来の度に、培養装置から培地を取り出して特許文献 1 に記載されているようなコロニー計数装置にセットして、培地の撮影を行うことでコロニー計数を行っていた。このようなコロニー計数は離散的な観察といえる。
- [0007] 一方、培地におけるコロニーの成長は、図示するように時間経過とともに連続的に進む。この図における横軸は培養開始時からの経過時間を示し、縦軸は培地を撮影した画像から取得する濃淡のコントラストを示す。濃淡のコントラストは、画像中の黒っぽい部分と白っぽい部分との明度の差である。上述の通り、コロニーを識別しカウントするためには所定の濃淡のコントラストが生じていなければならない。例えば、図においては 1 8 時間経過の段階ではカウント可能な程のコントラストは生じていない。
- [0008] ここで、従来のコロニー計数のように培養開始から 6 時間間隔でコロニー計数を行っていた場合、コロニーのカウントが初めてなされるのは 1 8 時間経過の段階となる。しかし、実際にコロニーのカウントが可能となるのは、それ以前の 1 3 時間経過後辺りからである。すなわち、最先でカウント可能な時から約 5 時間後に観察を行うことになり、無為に時間を過ごしたといえる。このように、従来のような離散的な観察では、カウント可能となる時と実際に観察を行う時とで隔たりが生じ、その隔たりが早期のコロニー計数を妨げることになる。

[0009] この問題に対して、観察の間隔を縮めるという考え方も存在する。しかしながら、離散的であることに変わらないため根本的にこの問題を解決することにはならない。また、観察の間隔を縮めるということは、培地を培養装置から頻繁に出し入れすることを意味し、培養条件に変動を生じさせるため、なるべく一定の条件で行うことが好ましい培養にとって好ましくない。したがって、コロニー計数を早期に行うための問題は解決されているとは言えない。

課題を解決するための手段

[0010] 上記問題を解決するために、本発明者は、暗環境で培養を行うための培養室内に培地を設置するとともに、暗環境下の培養室内でも濃淡のコントラストが明瞭な画像を取得しやすくするために、可視光よりも培地とコロニーの吸光度の差異が大きく、散乱しにくいという性質の赤外光を照射して画像を取得することに思い至った。本発明は、このように培養しながら観察を行い得るように構成することで早期にコロニー計数を可能とする。

[0011] すなわち、観察対象を保持するための観察対象保持部と、暗環境下で観察対象保持部に保持された観察対象の中の菌の培養を行うための暗環境培養室と、暗環境培養室内に納められる観察対象保持部に保持された観察対象を赤外光で照射する赤外光源と、赤外光源により赤外光を照射される観察対象の像を撮影する赤外光カメラと、を有する暗環境同時観察培養装置を提供する。

[0012] また、上記の構成を備え、赤外光カメラが観察対象を複数回にわたり継続して撮影するための複数撮影制御を行う制御部をさらに有する暗環境同時観察培養装置を提供する。

[0013] また、上記の構成を備え、赤外光源は、近赤外光を照射する暗環境同時観察培養装置を提供する。また、上記の構成を備え、赤外光源には赤外光の所定の波長帯を遮るフィルターが備わる暗環境同時観察培養装置を提供する。また、上記の構成を備え、赤外光カメラには赤外光の所定の波長帯を遮るフィルターが備わる暗環境同時観察培養装置を提供する。

- [0014] また、上記の構成を備え、赤外光カメラは、暗環境培養室内の天井側に下方に向けて配置され、赤外光源は、暗環境培養室内の床側に上方に向けて配置され、観察対象保持部は、赤外光カメラと赤外光源との間に配置される暗環境同時観察培養装置を提供する。
- [0015] また、上記の構成を備え、観察対象の菌はメンブレンフィルタに配置されている暗環境同時観察培養装置を提供する。また、上記の構成を備え、前記観察対象として培地と菌源とを混釈することでなる深方向分布菌源培地とする暗環境同時観察培養装置を提供する。
- [0016] 上記いずれかの暗環境同時観察培養装置を用いた観察培養方法であって、暗環境培養室内に暗環境下で菌の培養を行うために培地に菌源を付加した観察対象を設置する観察対象設置ステップと、暗環境培養室内に納められた観察対象に前記赤外光源により赤外光を照射する赤外光照射ステップと、前記赤外光カメラにより赤外光源により赤外光を照射されている状態で観察対象を撮影する撮影ステップと、を有する暗環境同時観察培養装置を用いた観察培養方法を提供する。
- [0017] また、上記のステップを有し、前記撮影ステップは、赤外光カメラが観察対象を複数回にわたり継続して撮影するための複数撮影制御を行う制御サブステップをさらに有する観察培養方法を提供する。また、上記のステップを有し、前記観察対象設置ステップは、培地原材料と菌源とを混釈して深方向分布菌源培地を製造する深方向分布菌源培地製造サブステップを有する観察培養方法を提供する。

発明の効果

- [0018] 本発明により、培養しながら観察を行うことで、より早期にコロニー計数を行うことを可能とすることができる。

図面の簡単な説明

- [0019] [図1]実施形態1の暗環境同時観察培養装置の各構成を示す概念図
[図2]近赤外光の波長領域を他の電磁波の波長領域とともに示す概念図
[図3]シャーレの蓋を下にした姿勢での観察対象の設置態様を示す概念図

[図4]観察対象が培地表面に塗布された試料である場合の各構成の位置関係を示す概念図

[図5]本実施形態における観察対象の撮影画像（a）と可視光による像を一般的なカメラで撮影した画像（b）

[図6]図5（a）の画像を撮影した装置の写真を示す図

[図7]実施形態2の暗環境同時観察培養装置の各構成を示す概念図

[図8]制御部のハードウェア構成の一例を示す概念図

[図9]コロニー検出部の一例を示す機能ブロック図

[図10]トレーを順次搬送しながら撮影する構成とした場合を示す概念図

[図11]実施形態4の観察培養方法の一例を示すフロー図

[図12]時間経過にともなうコロニーの成長とカウント可能なコントラスト
発明を実施するための形態

[0020] 以下、本発明の実施の形態について、添付図面を用いて説明する。なお、本発明は、これら実施形態に何ら限定されるべきものではなく、その要旨を逸脱しない範囲において、種々なる態様で実施し得る。

[0021] 実施形態1は、主に請求項1、3から8などに関する。実施形態2は、主に請求項2、10などに関する。実施形態3は、主に請求項1から11に関する。実施形態4は、主に請求項9から11に関する。

<実施形態1>

<実施形態1 概要>

[0022] 本実施形態に係る暗環境同時観察培養装置は、検査対象に含まれる菌の培養を暗環境培養室で行いつつ、培養過程において観察対象の像を撮影するための赤外光源と赤外光カメラとを暗環境培養室に備えることに特徴を有する。

[0023] 菌の培養に好適な暗環境室内にて赤外光を照射した像を撮影することができるため、培養しつつそれらの撮影画像に基づくコロニー計数のための観測をすることができるとともに、赤外光を照射して撮影することで可視光を照射する場合に対してより分解能に優れた撮影画像を取得することができ、早

期のコロニー計数を可能とすることに寄与する。

[0024] 上述したように赤外光は、可視光と比較して培地とコロニーの吸光度の差異が大きい。とくに牛乳を混釈した培地や血液培地やチョコレート培地などのように透明度の低い培地を用いた場合には、可視光は培地とコロニーの吸光度が同程度に高いが、赤外光においては両者の吸光度に差異が生じる。したがって、赤外光を照射した場合の方が可視光を照射した場合よりも、培地とコロニーとによる濃淡のコントラストを画像として取得しやすいという利点がある。

[0025] また、赤外光は白色光などの可視光に対して散乱しにくい性質を有する。したがって、赤外光を照射して撮影された画像の方が、コロニーが存在する部分と存在しない部分との境界が明瞭になる。したがって、可視光の照射により撮影された画像ではひとまとまりのコロニーとしてしか識別できないほどに微小なコロニーが密集している場合においても、赤外光により撮影した画像においてはそれらの個々の微小なコロニーを別個に識別し得る。すなわち、赤外光を照射した場合の方が、分解能に優れる画像を撮影することが可能となり、コロニーの抽出をより高精細に行うことができ、それにより早期にコロニー計数を行うことが可能となる。

<実施形態1 構成>

[0026] 図1は、本実施形態の暗環境同時観察培養装置の各構成を示す概念図である。図示するように、「暗環境同時観察培養装置」(0100)は、「暗環境培養室」(0101)と、「赤外光源」(0102)と、「赤外光カメラ」(0103)と、を有する。そして、赤外光カメラと赤外光源との間に「観察対象」(0104)を保持するための「観察対象保持部」(0105)がある。図中には、赤外光カメラにより撮影された観察対象の像からコロニーの識別し計数等を行うための「コンピュータ」(0106)や、撮影した画像やコロニー計数結果などを出力するための「ディスプレイ」(0107)も示されている。なお、図中の矢印は、実線の矢印は観察対象に照射される赤外光を表わし、破線の矢印は観察対象を透過した赤外光を表わすもので

ある。

[0027] 「観察対象保持部」(0105)は、観察対象を保持する。観察対象は、衛生検査等の検査対象となる一般生菌や大腸菌群などの細菌や真菌などとそれらに生育環境を付与するための培地を収めたシャーレ等の容器である。また、メンブレンフィルタ等を用いる場合にはそれらも観察対象となる。図中においては試料を混釈した培地を収めた「シャーレ」(0106)が観察対象となる。観察対象を保持する具体的態様は種々あり、例えば、シャーレを所定の位置に載置するためのプレートや、シャーレの両側方から挟持するための治具などがある。観察対象となる容器や培養の態様、撮影の態様などに応じて観察対象保持部は適宜選択し得る。

[0028] 「暗環境培養室」(0101)は、暗環境下で観察対象の中の菌の培養を行うための室である。培養に適した室であって、閉じた際に室内が暗環境となるものである限り特段の限定を付さない。例えば、インキュベータなどを暗環境培養室として用いることができる。また、暗環境とすることは、赤外光を照射して観察対象を撮影する際に、可視光の影響を受けることを防止する意味もある。また、食品等の製品を保管する環境は暗環境であることが多いため、暗環境下で培養する製品が実際に置かれる環境を想定した衛生検査を行うことができる。

[0029] また、培養のための培地や培養方法については、菌や検査の目的に応じて適宜選択し得る。培養方法は大きく混釈培養法と平板塗抹培養法とがある。混釈培養法は、培地と菌源とを混釈して調製した培地を培養する方法である。具体的には加熱して溶解させた寒天培地などと試料とを混ぜ合わせてシャーレなどの容器に納めた後に温度低下に伴い凝固させた培地を培養する。このように調製された培地を、本明細書においては「深方向分布菌源培地」と呼ぶ。

[0030] 平板塗抹培養法は、溶解した寒天培地をシャーレなどの容器に納め凝固した後に、その培地表面上に試料を塗抹して接種する方法である。平板塗抹培養法では培地の表面上にコロニーが形成することから、その形状等を詳細に

観察することができる。しかし、培地表面上にしか接種することができないため、接種試料量が少なく検出限界が低くなってしまふ。

[0031] これに対し、混釈培養法では培地中に試料を接種することができるため接種試料量が多く、検出限界が高い。したがって、一般生菌数の測定や大腸菌群の測定のように試料中の菌数が少ない場合における菌検出に有利である。ただし、コロニーが培地中で形成するため、その検出は平板塗抹培養法の場合より難しいといえる。

[0032] また、メンブレンフィルタを用いて培養してもよい。メンブレンフィルタは、0.2～数 μm 程度の微粒子又は微生物を濾過によって分離するために用いられ、一体的かつ連続的な孔を有する多孔質体の膜である。その素材としては、セルロース、PVDF (Polyvinylidene Difluoride: ポリフッ化ビニリデン)、PTFE (Polytetrafluoroethylene: ポリテトラフルオロエチレン)、ポリエチレン、ナイロンなどが用いられる。

[0033] メンブレンフィルタによる培養は、食品衛生検査においては清涼飲料水の検査などに用いられ、清涼飲料水をメンブレンフィルタにより濾過し、濾過後のメンブレンフィルタをシャーレ内で凝固させた目的に応じた寒天培地の表面に貼付して培養する。この方法は試料量が多く菌数が少ないと予想される場合に好適である。メンブレンフィルタ上に形成されるコロニーの検出は、従来はメンブレンフィルタを可視光が透過しにくいいため専ら反射光により撮影された像に基づいて行っていたが、本実施形態における赤外光はメンブレンフィルタを透過するため透過光により撮影された像に基づいて行うことが可能となる。

[0034] また、培地及び培養方法の選択は、例えば、一般生菌数の検査においては混釈培養法により標準寒天培地を培養し、大腸菌群の検査においては混釈培養法によりデソキシコレート寒天培地で培養し、黄色ブドウ球菌の検査においては試料を塗抹した卵黄加マンニット食塩寒天培地を培養するといった具合である。

- [0035] 「赤外光源」(0102)は、暗環境培養室内に納められる観察対象を赤外光で照射するために備わる。赤外光源は、概ね波長 $0.7\mu\text{m}$ ～波長 $1000\mu\text{m}$ の範囲の光である赤外光を発する光源である。赤外光源の形態は、観察対象の全領域を像として撮影し得る観点から、観察対象の照射対象面積より広い面積を有する面発光型であることが好ましい。具体例としては、赤外光を発するLEDなどの複数の発光素子を格子状や同心円状に配列するとともに拡散板を備える赤外光源が挙げられる。なお、観察対象の照射対象面積とは、例えば、観察対象が円筒形状のシャーレである場合には、そのシャーレの底面積をいう。
- [0036] また、赤外光源は、近赤外光を照射するものであることが好ましく、さらに言えば概ね波長 $0.7\mu\text{m}$ ～波長 $1\mu\text{m}$ の範囲の近赤外光を照射するものであることが好ましい。図2は、近赤外光の波長領域を他の電磁波の波長領域とともに示す概念図である。近赤外光よりも波長の短い可視光(波長 $0.4\mu\text{m}$ ～波長 $0.7\mu\text{m}$)においては培地とコロニーの吸光度が同程度となってしまう、 $1\mu\text{m}$ よりも長い波長では水による吸光度が大きくなり、水を多く含む培地の吸光度が増加しコロニーの吸光度との差異が小さくなってしまふからである。
- [0037] また、赤外光源が発する光の波長領域を所望の領域範囲とするためには、その所望の範囲の波長の赤外光を発するように設計されている発光素子を備える赤外光源を用いてもよいし、発光素子の発する波長領域が所望の領域範囲を超える場合には、所定の超過領域の波長帯を吸収又は反射などにより遮るためのフィルターを備える赤外光源を用いてもよい。
- [0038] なお、赤外光源により照射される赤外光は専ら撮影のためのものであるので、常時赤外光を照射しなくてもよい。例えば、赤外光カメラが観察対象を撮影するために必要なときなどの適時に赤外光を照射するよう赤外光源を制御するように構成してよい。
- [0039] 「赤外光カメラ」(0103)は、赤外光源により赤外光を照射される観察対象の像を撮影する。「像」とは、被写体を透過した光を受光することで

得られる画像をいう。また、撮影された画像に対してコロニー識別のための画像処理等を行うためデジタル式の赤外光カメラを用いる。

[0040] 赤外光カメラは、赤外光の波長領域において受光感度を有するフォトダイオードを用いた撮像素子（CCD、CMOSなど）を備えるカメラであればよい。所望の波長領域において良好な受光感度を有する赤外光カメラは種々製品化されており、例えば、「ARTCAM-1000MI-WOM-OP（株式会社アートレイ）」や「C11440-52U（浜松ホトニクス株式会社）」などがある。なお、高精細に撮影することが望ましいので、赤外光カメラの有効画素数は1000万以上であることが好ましい。

[0041] また、赤外光カメラには赤外光の所定の波長帯を遮るフィルターを備えてもよい。例えば、観察対象の撮影に好適な波長0.7 μ m～波長1 μ mの範囲外の赤外光を遮るフィルターや可視光領域の波長を遮るフィルターを備えていてもよい。

[0042] ここで、赤外光カメラ、赤外光源、観察対象のそれぞれの配置について説明する。まず、本実施形態の暗環境同時観察培養装置は赤外光を照射された観察対象の像を撮影するものであるので、赤外光の照射方向と赤外光カメラの撮影方向とが向き合うように赤外光源と赤外光カメラとが配置され、赤外光源と赤外光カメラとの間に観察対象が位置することが好ましい。

[0043] 図1においては、暗環境培養室内の天井部分に赤外光カメラが下方を向くように設置され、赤外光源は暗環境室内の床部分に照射光が上方を向くように設置される。そして、観察対象となるシャーレは赤外光源の上に設置されている。このような配置は赤外光カメラの設置位置を優先した結果である。すなわち赤外光カメラは基本的に下方を向くように配置されることが好ましいからである。赤外光カメラのレンズが上方を向いていると、暗環境培養室内に存在する塵などがレンズ面に落下し付着してしまう場合があり、付着した塵などが撮影画像のノイズとなり適正な撮影の妨げとなるからである。

[0044] また、図1において、シャーレはシャーレの蓋が上に位置する姿勢で設置されている。これは、平板塗抹培養法により培養する場合に、その塗抹され

た試料が存在する培地表面が赤外光カメラに向くように配置する方がコントラストの良好な画像を撮影することができるからである。

[0045] また、図1に示したシャーレの姿勢を上下逆転させた姿勢にて設置するようによい。図3は、そのような場合における観察対象の設置態様を示す概念図である。図示の趣旨より案環境培養室外の図示を省略する。図示するように、「暗環境培養室内」(0301)の天井部分に「赤外光カメラ」(0302)が下方を向くように設置され、「赤外光源」(0303)は床部分に照射光が上方を向くように設置される。そして、観察対象となる「シャーレ」(0304)は、蓋が下に位置するように「観察対象保持部」(0305)に設置されている。

[0046] 寒天培地などの固形培地を用いて培養を行う場合に、混釈または塗抹のいずれの方法においても、溶解した寒天培地が凝固するまでは蓋が上になる姿勢でシャーレは静置される。そして、寒天培地が凝固した後に上下を反転させ蓋が下方に位置する姿勢にして培養室等に納めることが一般的に行われている。蓋が上に位置した姿勢で培養をした場合、培地から蒸発した水分が蓋の表面で凝集し滴となって培地の表面に落ちることがある。このような事態は、培地表面での培養条件に変化が生じたり、培地の撮影の障害となるなど、コロニー計数を適正に行ううえでの妨げとなる。そこで、上述したように蓋が下に位置するようシャーレを設置する。

[0047] 本実施形態の暗環境同時観察培養装置においては、培養しつつ観察対象を撮影することでコロニー観察を行うものである。したがって、観察対象の培養に好適な姿勢でシャーレを設置し、その姿勢のまま観察対象を適性に撮影し得るように構成することが好ましく、混釈して観察対象を調製する場合には、上述したようにシャーレの蓋が下に位置するよう設置するとともに、シャーレの底を撮影し得るよう赤外光カメラを設置することが好ましい。

[0048] また、試料を培地の表面に塗布して培養する場合、培養に好適なシャーレの姿勢は上述した理由により蓋が下に位置する姿勢である。この姿勢において、試料を塗抹した培地表面を撮影するためにはシャーレの蓋側に赤外光カ

メラを設置する必要がある。図4は、観察対象が平板塗抹法による培地を収めたシャーレである場合の各構成の位置関係を示す概念図である。図示するように、「暗環境培養室内」(0401)の天井部分に「赤外光源」(0402)が下に向けて赤外光が照射されるように設置され、「赤外光カメラ」(0403)は床部分に上方を向くように設置される。そして、「シャーレ」(0404)は、蓋が下に位置するように「治具」(0405)に設置されている。

[0049] このように各構成を配置する場合には、赤外光カメラのレンズを開閉自在に覆う「カバー」(0406)などを設け、撮影の際にのみカバーが開くように構成することが好ましい。レンズが上方を向いてむき出しのままであると、暗環境培養室内に存在する塵などがレンズ面に落下し付着してしまう場合がある。付着した塵等は撮影画像のノイズとなり適正な撮影の妨げとなるため、かかる事態を防止するためにレンズを覆うカバーを設けることが好ましい。

[0050] 以上のように構成される本実施形態の暗環境同時観察培養装置により撮影された培地の画像の例を、従来技術における画像とともに図5に示す。図5は、本実施形態における観察対象の撮影画像(a)と、可視光による像を一般的なカメラで撮影した画像(b)とを示すものである。

[0051] また、図6に、図5(a)の画像を撮影した装置の写真を示す。撮影は示されている装置全体を可視光が侵入しないようにカバーをして行った。この装置において、「赤外光カメラ」(0601)は、「ARTCAM-1000MI-WOM-OP(株式会社アートレイ)」を用い、レンズには「TSVIS-NIRコンパクト固定焦点レンズ16MM(エドモンドオプティクスジャパン株式会社)」を用いた。また、近赤外光波長領域である875nmより短い波長をカットする「フィルター」(0602)は、「OD4ロングパスフィルター875NM(エドモンドオプティクスジャパン株式会社)」を用いた。また、「赤外光源」(0603)の発光素子となるLEDは「SHF-487880NM(OSRAM Opto Semiconduc

t o r s) 」を用いた。そして、「観察対象」(0604)は、一般生菌数検査を想定し、牛乳を混釈して調製した寒天培地を用いた。

[0052] 一方、図5(b)は、図5(a)と同じ培地を、上述の赤外光カメラと同一解像度の1000万画素カメラを用い、650nmより長い波長をカットするフィルターを用い、白色LEDを光源として撮影した画像である。

[0053] 図示する通り、図5(a)における画像では菌影と培地とのコントラストが明瞭であり、菌影の輪郭もはっきりと写されている。一方、図5(b)における画像では菌影が薄くコントラストが不明瞭であり、菌影の輪郭もはっきりと写されていない。したがって、図5(b)における画像では、更に菌の成長を待ち、陰影がより大きくならなければ検出ができず、結果的に検出が遅くなってしまう。

[0054] 以上の結果の通り、平板塗抹培養法の場合と比較してコロニー検出が難しい混釈培養法により調製した培地である深方向分布菌源培地を対象とした場合であっても、コロニーの存否を示す濃淡が明瞭に写されていることが分かる。したがって、本実施形態の暗環境同時観察培養装置は、透過率が高く散乱しにくい赤外光を照射して撮影することにより、とくに混釈培養法やメンブレンフィルタ法によるコロニー検出対象を高精細に行うために好適であるといえる。

<実施形態1 効果>

[0055] 本実施形態の暗環境同時観察培養装置により、培養とその撮影を一の装置内で行うことができるとともに、赤外光により分解能に優れる画像を撮影することができ早期にコロニー計数を行うことが可能となる。

<実施形態2>

<実施形態2 概要>

[0056] 本実施形態は、実施形態1の暗環境同時観察培養装置において、赤外光カメラにより撮影態様を制御する制御部を備えることを特徴とする。これにより、種々なる態様で観察対象を観察することが可能となる。

<実施形態2 構成>

[0057] 図7は、本実施形態の暗環境同時観察培養装置の各構成を示す概念図である。図示するように、「暗環境同時観察培養装置」(0700)は、「暗環境培養室」(0701)と、「赤外光源」(0702)と、「赤外光カメラ」(0703)と、「観察対象」(0704)を保持するための「観察対象保持部」(0705)と、「制御部」(0706)と、を有する。本図において制御部を具現する一例として「コンピュータ」を示した。また、コンピュータには撮影した画像やコロニー計数結果などを出力するための「ディスプレイ」(0707)を接続してもよい。制御部のほかの各構成については実施形態1における各構成と同様であるので、ここでの説明は省略する。

[0058] 「制御部」(0706)は、赤外光カメラが観察対象を複数回にわたり継続して撮影するための複数撮影制御又は／及び観察対象を継続的に動画撮影するための動画撮影制御を行う機能を果たす。

[0059] 複数撮影制御の具体的な態様は、例えば、培養開始の際に初回の静止画の撮影を行い、その後30分間隔で48時間にわたり継続して静止画を撮影するように制御する。また、培養の始期の段階における撮影間隔を相対的に長時間とし、始期以降の段階における撮影間隔を相対的に短時間とするように制御してもよい。例えば、培養開始から6時間までを始期としその間の撮影間隔を120分とし、培養開始から6時間経過後については撮影間隔を30分とするといった具合である。これは、菌が分裂を始めるまでに相応の時間がかかるとともに、一旦分裂が始まると次々に再分裂が生じるからである。

[0060] また、観察対象が混釈培養法による培地を収めた容器である場合には、赤外光カメラの焦点を変えながら撮影するように制御してもよい。例えば、容器に収められた培地の深さが5mmである場合に、培地表面に焦点を合わせて撮影を行ってから焦点をさらに1mmずつ培地の深さ方向に変えながら都度撮影を行い計5枚の画像を取得する。このように取得した各画像についてコロニー計数を行うことにより培地の深さ方向にも散在するコロニーを検出することができる。また、焦点をずらしながら撮影する代わりに、観察対象保持部の位置を変動自在に構成することで、観察対象と赤外光カメラとの距

離を変化させながら都度撮影するようにしてもよい。

[0061] また、制御部は、赤外光カメラによる撮影に不可欠な赤外光源による赤外光照射の制御を併せて行うように構成してもよい。例えば、赤外光カメラが観察対象を撮影するために必要なときなどの適時に赤外光を照射するよう赤外光源を制御するように構成してよい。

[0062] 制御部は、例えば、ハードウェア、ソフトウェア、ハードウェアとソフトウェアの両方のいずれかによって構成される。例えば、これらを実現する一例として、コンピュータを利用する場合には、CPU、バス、メモリ、インタフェース、周辺装置などで構成されるハードウェアと、それらハードウェア上で実行可能なソフトウェアがある。ソフトウェアとしては、メモリ上に展開されたプログラムを順次実行することで、メモリ上のデータや、インタフェースを介して入力されるデータの加工、保存、出力などにより各部の機能が実現される。

[0063] 図8は制御部の具体的なハードウェア構成を示す図である。図示するように、「制御部」(0800)は、各種演算処理を実行するための「CPU」(0801)、各種演算処理を行なうプログラムをCPUに実行させるために読み出すとともにそのプログラムのワーク領域を提供する「主メモリ」(0802)、赤外光カメラを制御するためのプログラムや制御の条件である撮影間隔や撮影スケジュールなどの情報等を記憶する「記憶装置」(0803)、「赤外光カメラ」(0806)との信号の授受をするための「I/O」(0804)などを備え、それらがシステムバス(0805)などのデータ通信経路によって相互に接続され情報の送受信や処理を行う。なお、制御部により赤外光源の照射の制御を行う場合には、赤外光カメラと同様にI/Oを介して信号の授受等を行う。

[0064] 制御部における処理を、複数撮影制御を行う場合を例として示す。例えば、まずCPUは、記憶装置に格納されている複数撮影制御のためのプログラムを主メモリのワーク領域に展開し、これを実行し記憶装置に格納される撮像間隔を読み出す。そして、読み出した値に応じて赤外光カメラに撮像させ

るための信号を I/O を介して赤外光カメラに出力する処理を行う。

[0065] また、制御部が赤外光源の照射の制御を行う場合には、CPU は、記憶装置に格納されている赤外光源の制御のためのプログラムを主メモリのワーク領域に展開し、これを実行し記憶装置に格納される照射間隔や照射時間を読み出す。そして、読み出した値に応じて赤外光源に撮像させるための信号を I/O を介して赤外光源に出力する処理を行う。

[0066] また、本実施形態の暗環境同時観察培養装置は、赤外線カメラにより撮影された画像に基づきコロニー計数をするためのコロニー計数部を有していてもよい。図 9 は、コロニー検出部の一例を示す概念図である。図示するように、「コロニー検出部」(0901) は、「フィルタ手段」(0902) と、「減算手段」(0903) と、「階調値設定手段」(0904) と、「抽出画像取得手段」(0905) と、「判定手段」(0906) と、「計数手段」(0907) と、を有する。コロニー計数部は、上記のハードウェア構成などにより実現され得る。

[0067] 「フィルタ手段」(0902) は、赤外光カメラにより撮影されたデジタル画像をグレースケール化してローパスフィルタを適用し培地の濁りなどの部分的な濃淡を除去する。「減算手段」(0903) は、上述のグレースケール画像から、フィルタ手段により部分的な濃淡が除去された画像を差し引き、オフセット値を差し引いた画像を得る。

[0068] 「階調値設定手段」(0904) は、減算手段で得た画像の最大の階調値と最小の階調値との間に所定間隔で複数の階調値を設定する。「抽出画像取得手段」(0905) は、減算手段で得られた画像から階調値設定手段で設定された各階調値より濃い画素のみを抽出して、各階調値に対応する二値化された複数の抽出画像を得る。

[0069] 「判定手段」(0906) は、抽出画像取得手段により得られた各抽出画像から、対応する階調値より濃く円形状の領域以外を除去し、さらに中心部分が濃くその周囲に向けて段階的に薄くなっている領域をコロニーと判定する。「計数手段」(0907) は、判定されたコロニーの計数を行う。コロ

ニーの計数は、例えば、観察対象を撮影するたびに行ってもよいし、撮影のタイミングとは異なるタイミングで行ってもよい。

[0070] また、計数手段による計数結果に基づき種々の処理を行う手段をさらに有していてもよい。例えば、予め設定された所定の計数値を閾値とし、計数手段による計数結果がその閾値を超えた場合に音声又は画像などによりアラームを出力する手段を有してもよい。あるいは、培養開始から時間の経過に伴う計数結果の推移をグラフ等で視覚的に表示する手段を有してもよい。

[0071] また、コロニー計数についての諸情報、例えば、試料、培地、培養条件、計数結果、計数結果の推移などの情報を蓄積してデータベースとするための手段を有してもよい。そして、このデータベースを参照した処理を行う手段を有してもよい。例えば、現に計数結果の推移を記録しながら、データベースに蓄積されている同じ観察対象の計数結果の推移と比較し差分を算出する手段を有してもよい。あるいは、試料を含まない培地のみのコントロールとの差分を算出する手段を有してもよい。そして、上述の算出された差分が所定の閾値を超えた場合には、何らかのアラームを出力するための手段を有してもよい。

[0072] また、データベースに蓄積されている情報を参照して観察対象に含まれる菌源を供した試料について、培養開始から24時間または48時間経過後のコロニー数を推定する手段を有してもよい。この手段により推定された24時間または48時間経過後のコロニー数が許容される値以下である場合には、その試料を供した食品等の安全基準を満たすものとし、直ちに流通経路に乗せ販売店等へ出荷する。そして、培養開始から48時間経過後に実際の観察対象から計数されたコロニー数が許容される値以下であることを確認したうえで、出荷された食品等を店頭に出す。このようにコロニー数を推定することで、現に48時間経過後にコロニー計数をして安全性の確認を行ってから流通経路に乗せる場合に比較して食品等を速やかに店頭に出すことができる。すなわち、より鮮度の高い食品等を市場に提供できるという利益を生じさせることができる。

[0073] また、データベースに蓄積されている情報を参照して観察対象に含まれる菌源を供した試料についての消費期限又は賞味期限を算出する手段を有してもよい。例えば、生肉の消費において許容される菌数を上回るまでの時間をデータベースに蓄積されている情報に基づき算出する。そして、算出された時間と培養を開始した時とから試料となった生肉の消費期限を算出するといった具合である。

<実施形態2 効果>

[0074] 本実施形態の暗環境同時観察培養装置により、観察対象や培養方法などに応じて適切な撮影をすることができる。

<実施形態3>

<実施形態3 概要>

[0075] 本実施形態において、実施形態1又は2を基本とし、赤外光カメラと観察対象とが多対多の関係にある暗環境同時観察培養装置を示す。

<実施形態3 構成>

[0076] これまで赤外光カメラと観察対象とが一对一の関係にある場合について説明を行ってきたが、本実施形態の暗環境同時観察培養装置は、赤外光カメラと観察対象とが多対多の関係にある場合にも適用し得る。例えば、暗環境培養室内に複数のシャーレを載置したトレーを多段収納し得るラックを設け、一のトレーに載置されるシャーレと同数の赤外光カメラをロボットアームに取り付けて、ロボットアームにより赤外光カメラを各トレーへ搬送して撮影するように構成してもよい。また、赤外光カメラと赤外光源は固定し、シャーレを載置したトレーを順次撮影場所へ搬送して撮影するように構成することもできる。

[0077] 図10は、トレーを順次搬送しながら撮影する構成とした場合を示す概念図である。なお、本図は暗環境培養室内の様子を概念化したものであり、主に赤外光カメラと赤外光源と観察対象とを示す。

[0078] 図示するように、1枚の「トレー」(1001)には観察対象となる「シャーレ」(1002)が3つ載置されている。そして計18枚のシャーレは

、図中の太線で示される環状の「ガイドレール」(1003)に沿って一定の姿勢を保ちつつ点線矢印で示される方向に周回するように構成される。このように構成するためには、モータなどの動力、動力をガイドレールに沿って各プレートに伝達するためのベルトやチェーンなどの伝達手段、動力を制御するためにコンピュータなどで構成される動力制御手段、などを協働させることで実現される。また、ガイドレールに代えて回転ドラムに複数のトレーを一定姿勢にて取付けて、ドラムの回転によりトレーを搬送するように構成してもよい。

[0079] 後述するように、赤外光カメラによる撮影を制御することと、撮影される予定のトレーを所定の撮影場所へ搬送するための制御とは密接に関連する。そのため、制御部がトレー搬送の制御をも行うように構成してもよい。

[0080] そして、ガイドレールの下端に搬送された「トレー」(1004)に載置されているすべてのシャーレを撮影するための「赤外光カメラ」(1005)と「赤外光源」(1006)とが、撮影に好適な位置に設置されている。なお、シャーレを載置しない状態での「トレー」(1007)は、シャーレ載置予定箇所が開口しているため、赤外光はシャーレの底面に照射される。

[0081] ここで、制御部が観察対象の撮影間隔を45分とした場合には、一のトレーが45分毎に撮影場所に搬送されるように動力を制御すればよい。具体的には、動力制御手段は、各トレーが2.5分間隔で順次撮影場所に搬送されるように動力を制御すればよい。そして、制御部は、動力制御手段による制御に応じて2.5分間隔で搬送されるトレーを撮影するように赤外光カメラを制御すればよい。

<実施形態3 効果>

[0082] 本実施形態の暗環境同時観察培養装置により、複数の観察対象の培養と観察とを効率よく行うことができ、コロニー計数における省力化をより一層図ることが可能となる。

<実施形態4>

<実施形態4 概要>

[0083] 本実施形態は、実施形態1から3のいずれかの暗環境同時培養装置を用いた観察培養方法に関するものである。

<実施形態4 構成>

[0084] 図10は、本実施形態の観察培養方法の一例を示すフロー図である。図示するように、本実施形態の観察培養方法は、「観察対象設置ステップ」(S1101)と、「赤外光照射ステップ」(S1102)と、「撮影ステップ」(S1103)とを有する。

[0085] 「観察対象設置ステップ」(S1101)は、暗環境同時観察培養装置の暗環境培養室内に暗環境下で菌の培養を行うために培地に菌源を付加した観察対象を設置する。例えば、平板塗抹培養法により培養を行う場合には、シャーレなどに溶解した寒天培地等を注いだ後凝固した培地表面上に試料を塗抹して菌源を付加する。そしてシャーレなどを暗環境培養室内に設置する。

[0086] 「赤外光照射ステップ」(S0902)は、暗環境培養室内に納められた観察対象に前記赤外光源により赤外光を照射する。また、赤外光カメラが観察対象を撮影するために必要なときなどの適時に赤外光を照射してもよい。適時に照射するためには、例えば、実施形態2で示したハードウェア構成等に基づき、CPUが記憶装置に格納されている赤外光源の制御のためのプログラムを実行するなどして行われる。

[0087] 「撮影ステップ」(S0903)は、前記赤外光カメラにより赤外光源により赤外光を照射されている状態で観察対象を撮影する。また、実施形態2又は3の暗環境同時観察培養装置を用いる場合には、撮影ステップは、赤外光カメラが観察対象を複数回にわたり継続して撮影するための複数撮影制御又は／及び観察対象を継続的に動画撮影するための動画撮影制御を行う制御サブステップをさらに有していても良い。例えば、複数撮影制御を場合には、培養開始の際に初回の撮影を行い、その後11分間隔で48時間にわたり継続して撮影する。このように撮影を制御するためには、例えば、実施形態2で示したハードウェア構成等に基づき、CPUが記憶装置に格納されている赤外光カメラの撮影を制御するためのプログラムを実行するなどして行わ

れる。

[0088] 上記各ステップを経て撮影された画像は、目視による観察に供されたり、コロニー計数のための画像処理プログラムやコロニー計数プログラムなどの実行に供される。なお、コロニー計数のための各種プログラムやそれらの実行処理等を行うための装置等については、実施形態2における各構成や既知の技術によって実現することができる。

[0089] また、観察対象設置ステップは、培地原材料と菌源とを混釈して深方向分布菌源培地を製造する深方向分布菌源培地製造サブステップを有していてもよい。すなわち、混釈培養法により培養を行う場合には溶解した寒天培地等と菌源となる試料とを混ぜ合わせたうえで凝固させる。そのようにして製造した深方向分布菌源培地を収めたシャーレなどの容器を暗環境培養室内に設置する。

<実施形態4 効果>

[0090] 本実施形態の培養方法により、培養とその撮影を一の装置内で行うことができるとともに、赤外光により分解能に優れた画像を撮影することができ早期にコロニー計数を行うことが可能となる。

符号の説明

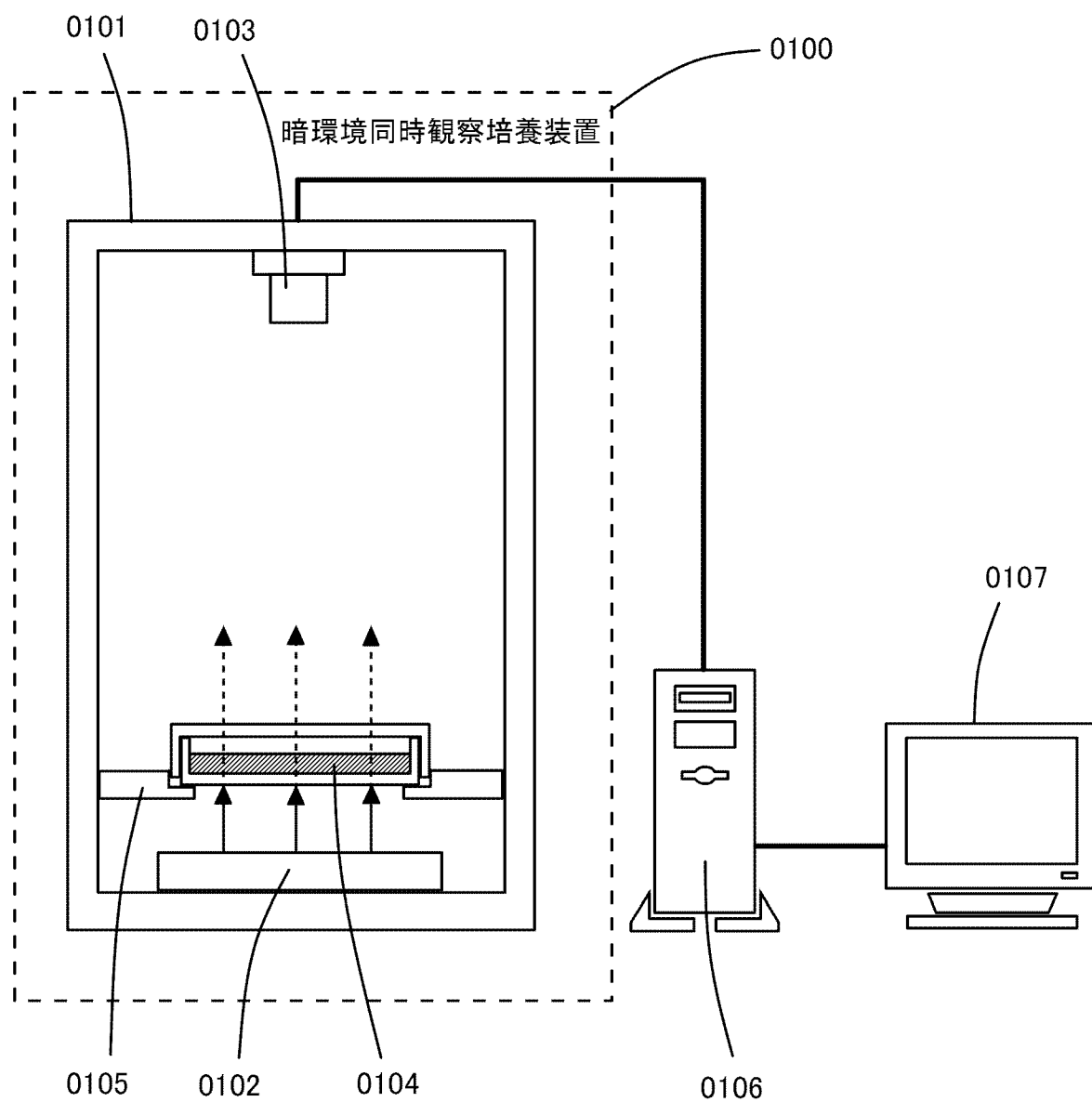
- [0091] 0100 暗環境同時観察培養装置
 0101 暗環境培養室
 0102 赤外光源
 0103 赤外光カメラ
 0104 観察対象
 0105 観察対象保持部
 0106 コンピュータ
 0107 ディスプレイ

請求の範囲

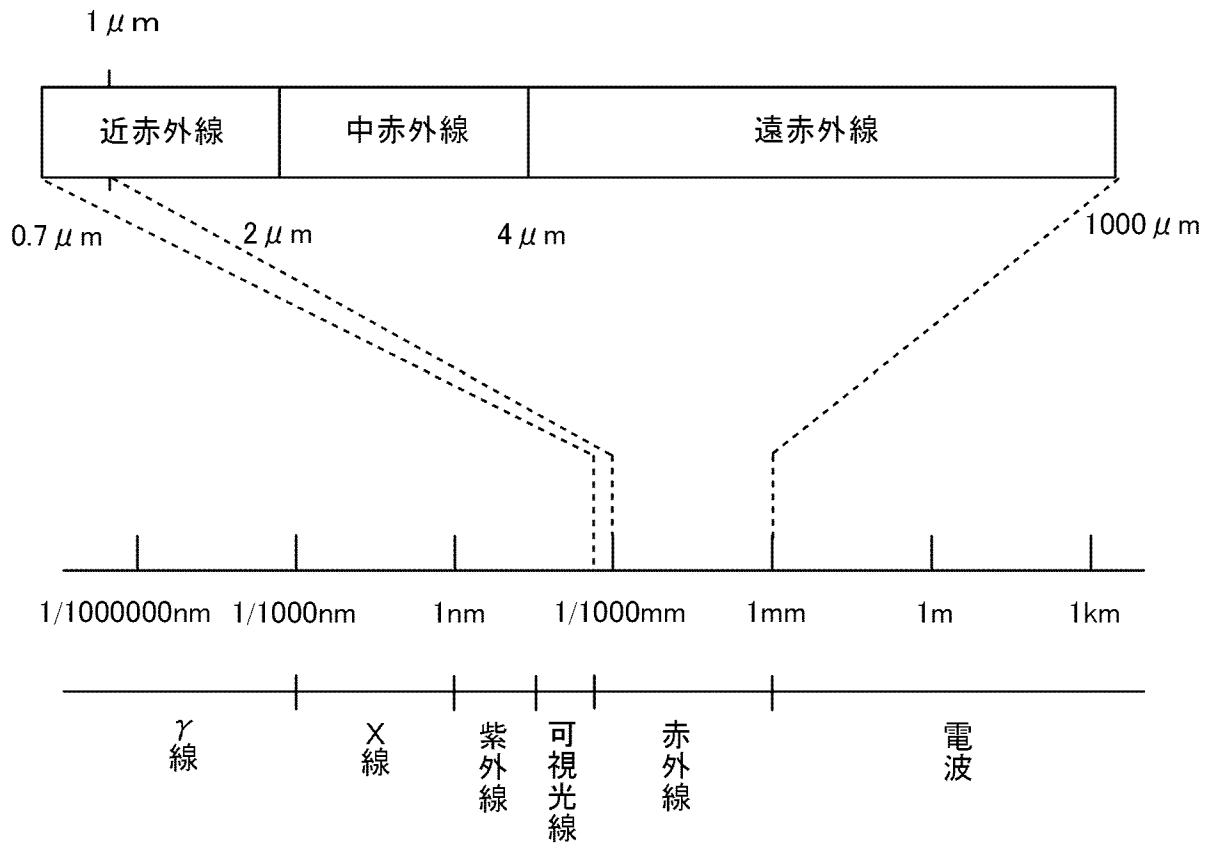
- [請求項1] 観察対象を保持するための観察対象保持部と、
暗環境下で観察対象保持部に保持された観察対象の中の菌の培養を行うための暗環境培養室と、
暗環境培養室内に納められる観察対象保持部に保持された観察対象を赤外光で照射する赤外光源と、
赤外光源により赤外光を照射される観察対象の像を撮影する赤外光カメラと、
を有する暗環境同時観察培養装置。
- [請求項2] 赤外光カメラが観察対象を複数回にわたり継続して撮影するための複数撮影制御を行う制御部をさらに有する請求項1に記載の暗環境同時観察培養装置。
- [請求項3] 赤外光源は、近赤外光を照射する請求項1又は2に記載の暗環境同時観察培養装置。
- [請求項4] 赤外光源には赤外光の所定の波長帯を遮るフィルターが備わる請求項1から3のいずれかーに記載の暗環境同時観察培養装置。
- [請求項5] 赤外光カメラには赤外光の所定の波長帯を遮るフィルターが備わる請求項1から4のいずれかーに記載の暗環境同時観察培養装置。
- [請求項6] 赤外光カメラは、暗環境培養室内の天井側に下方に向けて配置され、
赤外光源は、暗環境培養室内の床側に上方に向けて配置され、
観察対象保持部は、赤外光カメラと赤外光源との間に配置される請求項1から5のいずれかーに記載の暗環境同時観察培養装置。
- [請求項7] 観察対象の菌はメンブレンフィルタに配置されている請求項6に記載の暗環境同時観察培養装置。
- [請求項8] 前記観察対象として培地と菌源とを混釈することでなる深方向分布菌源培地を含む請求項1から7のいずれかーに記載の暗環境同時観察培養装置。

- [請求項9] 請求項1から8のいずれかーに記載の暗環境同時観察培養装置を用いた観察培養方法であって、
- 暗環境培養室内に暗環境下で菌の培養を行うために培地に菌源を付加した観察対象を設置する観察対象設置ステップと、
- 暗環境培養室内に納められた観察対象に前記赤外光源により赤外光を照射する赤外光照射ステップと、
- 前記赤外光カメラにより赤外光源により赤外光を照射されている状態で観察対象を撮影する撮影ステップと、
- を有する暗環境同時観察培養装置を用いた観察培養方法。
- [請求項10] 前記撮影ステップは、赤外光カメラが観察対象を複数回にわたり継続して撮影するための複数撮影制御を行う制御サブステップをさらに有する請求項9に記載の観察培養方法。
- [請求項11] 前記観察対象設置ステップは、培地原材料と菌源とを混釈して深方向分布菌源培地を製造する深方向分布菌源培地製造サブステップを有する請求項9又は10に記載の観察培養方法。

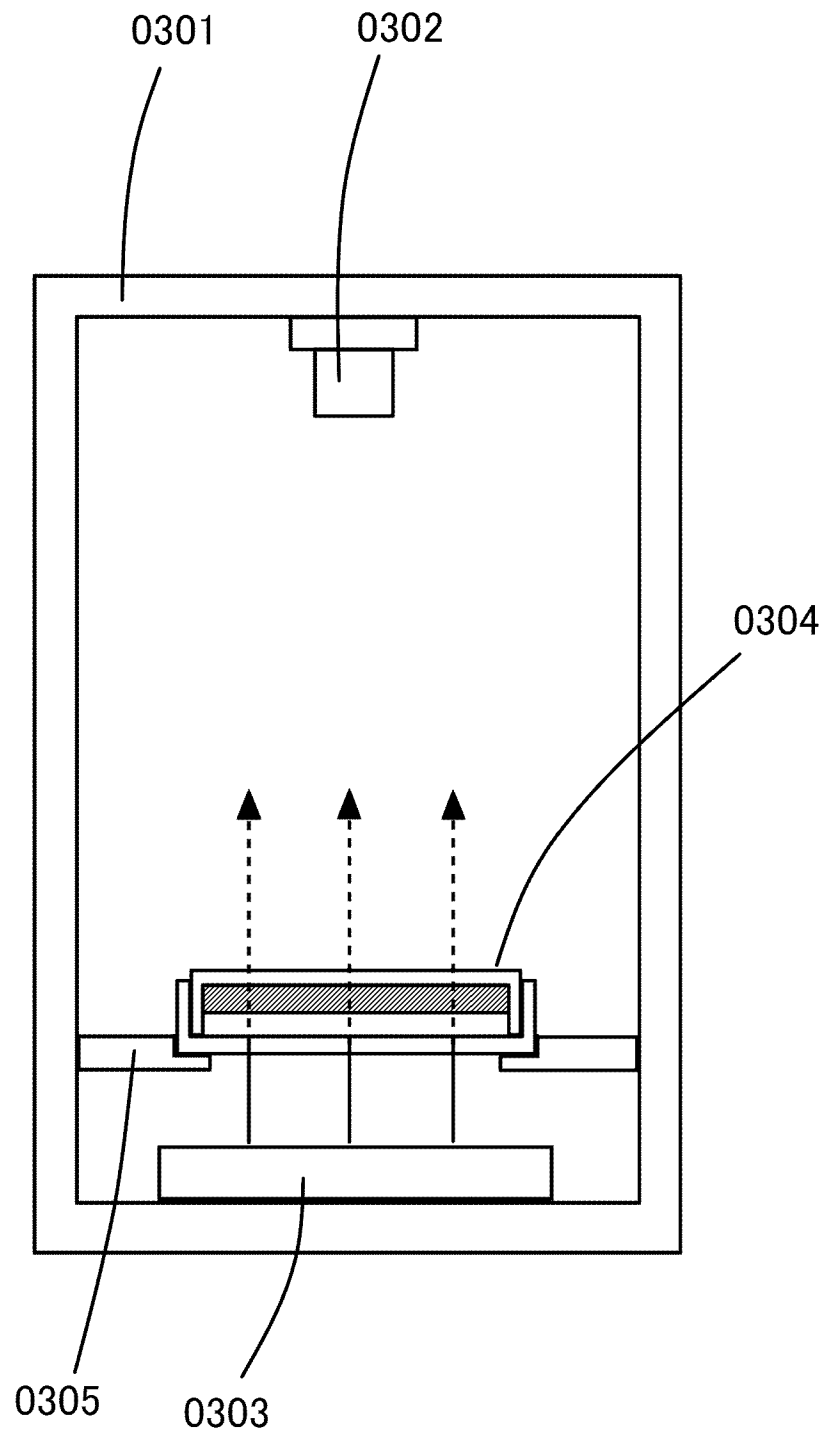
[圖1]



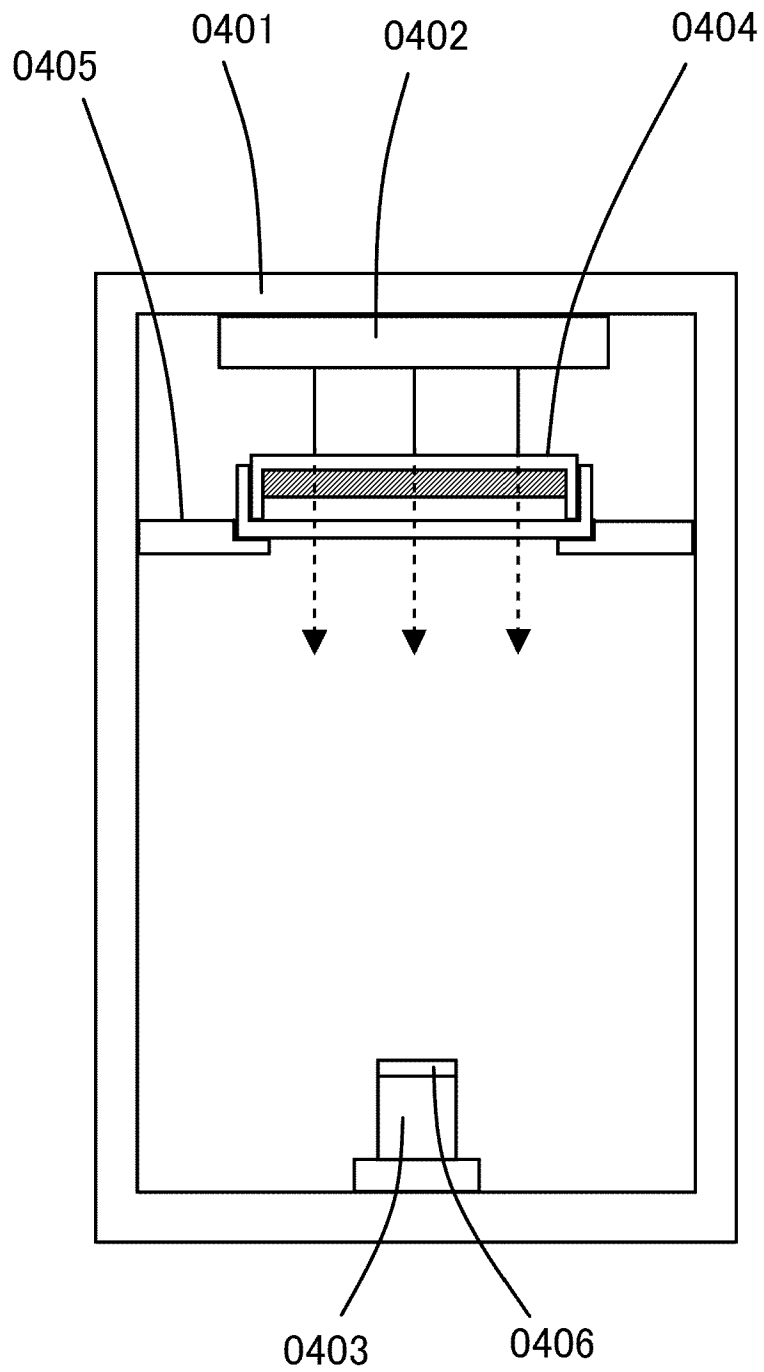
[図2]



[図3]

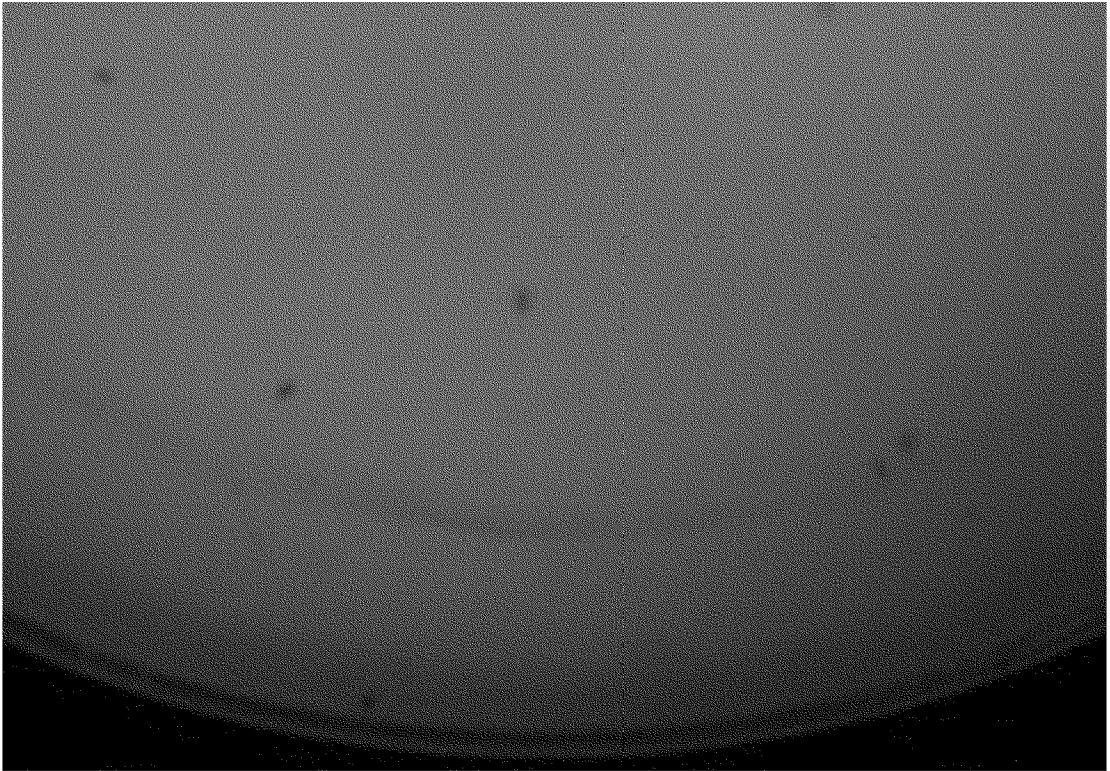


[図4]

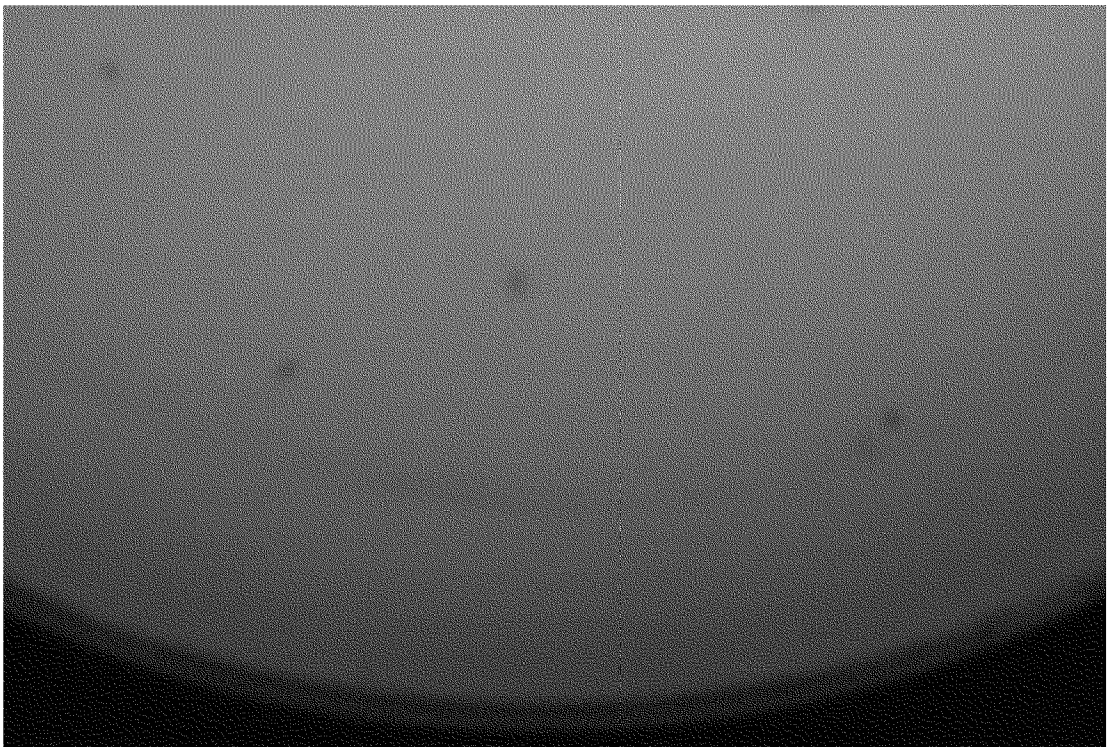


[図5]

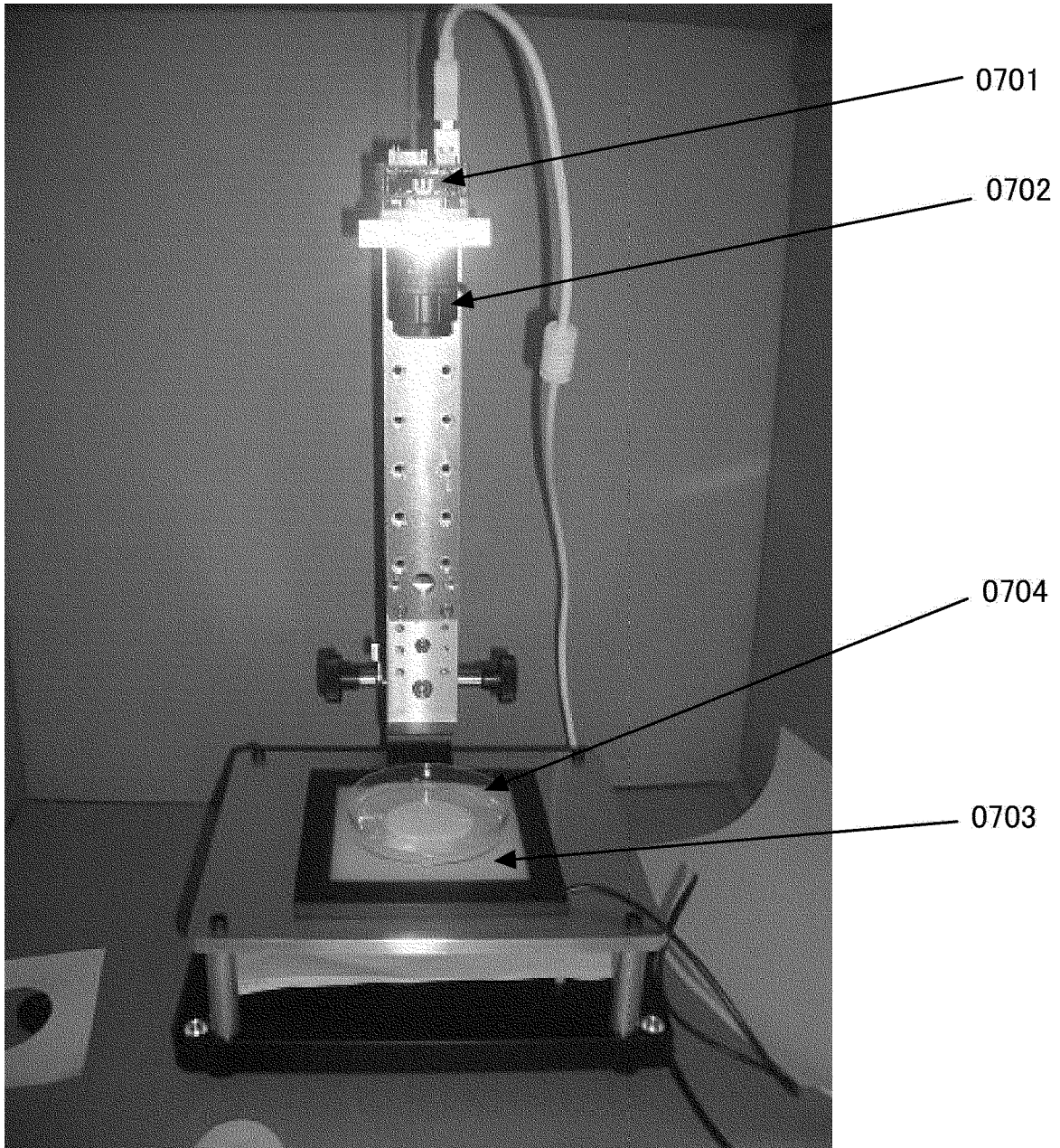
(a)



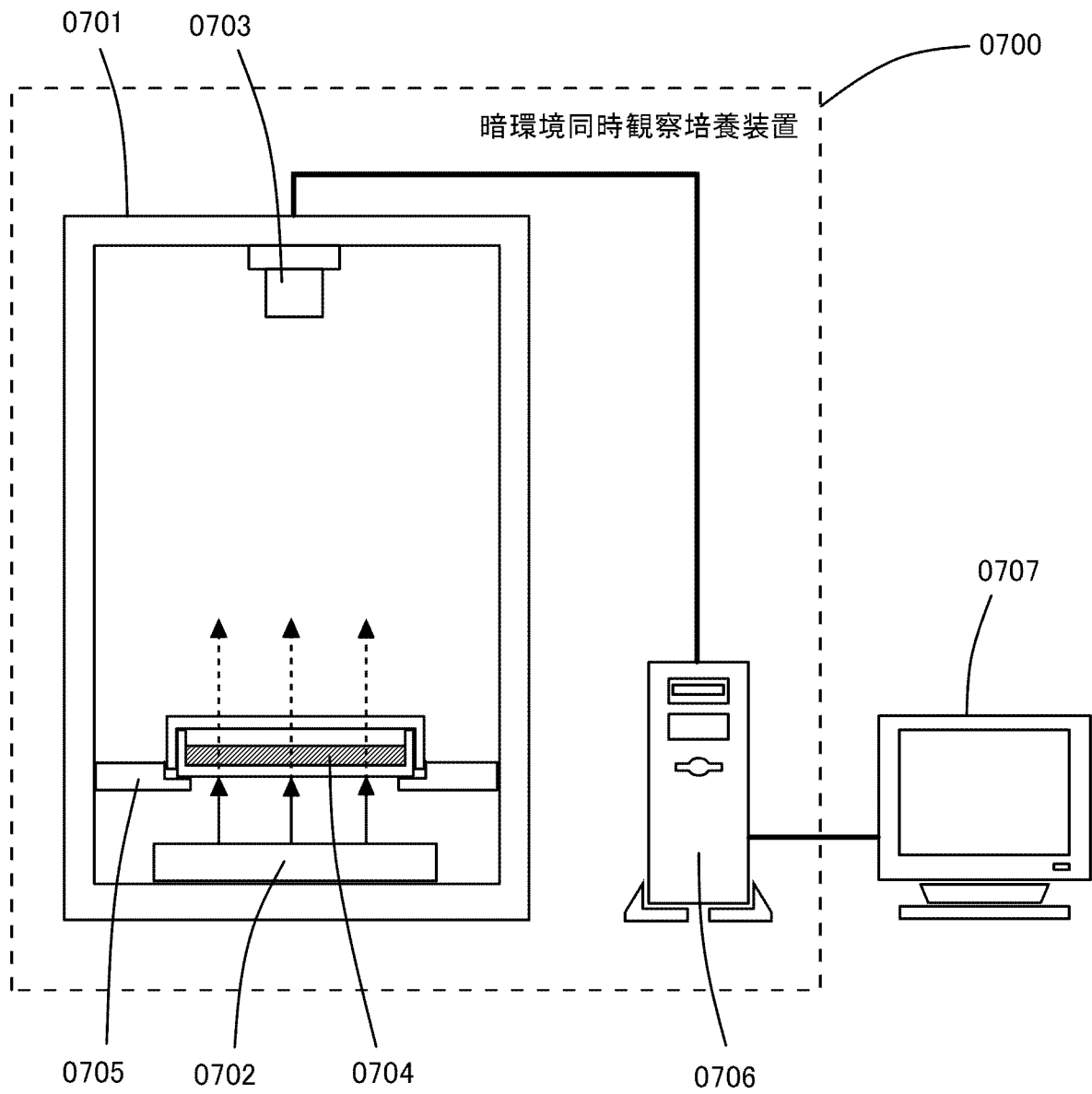
(b)



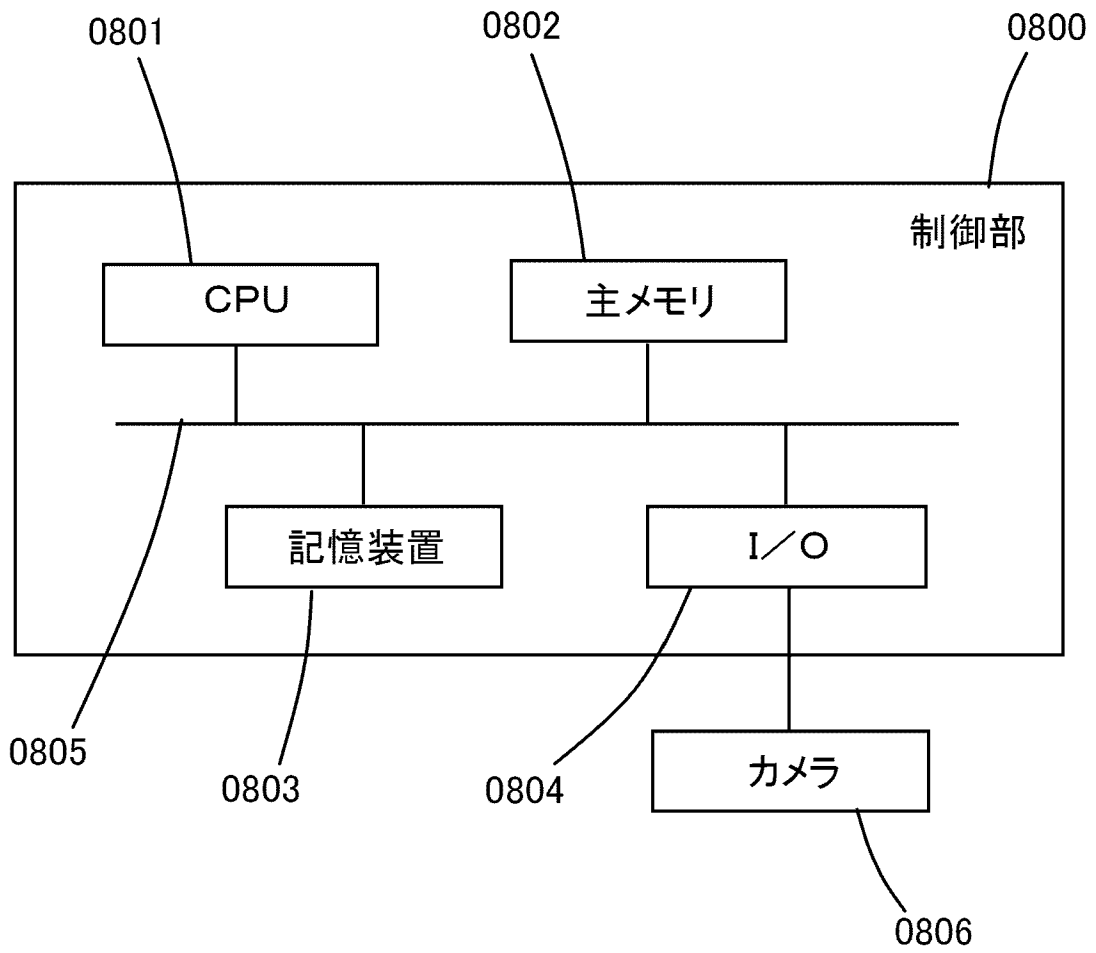
[図6]



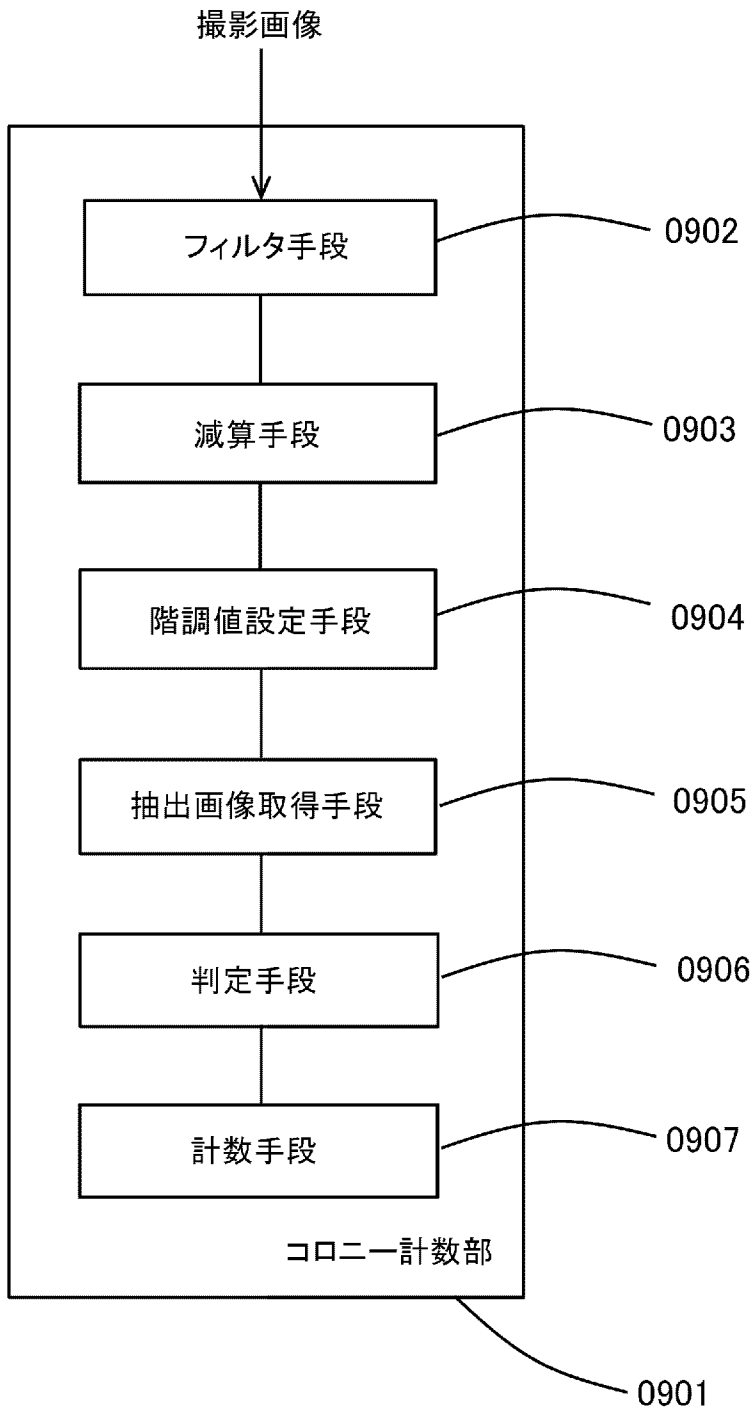
[圖7]



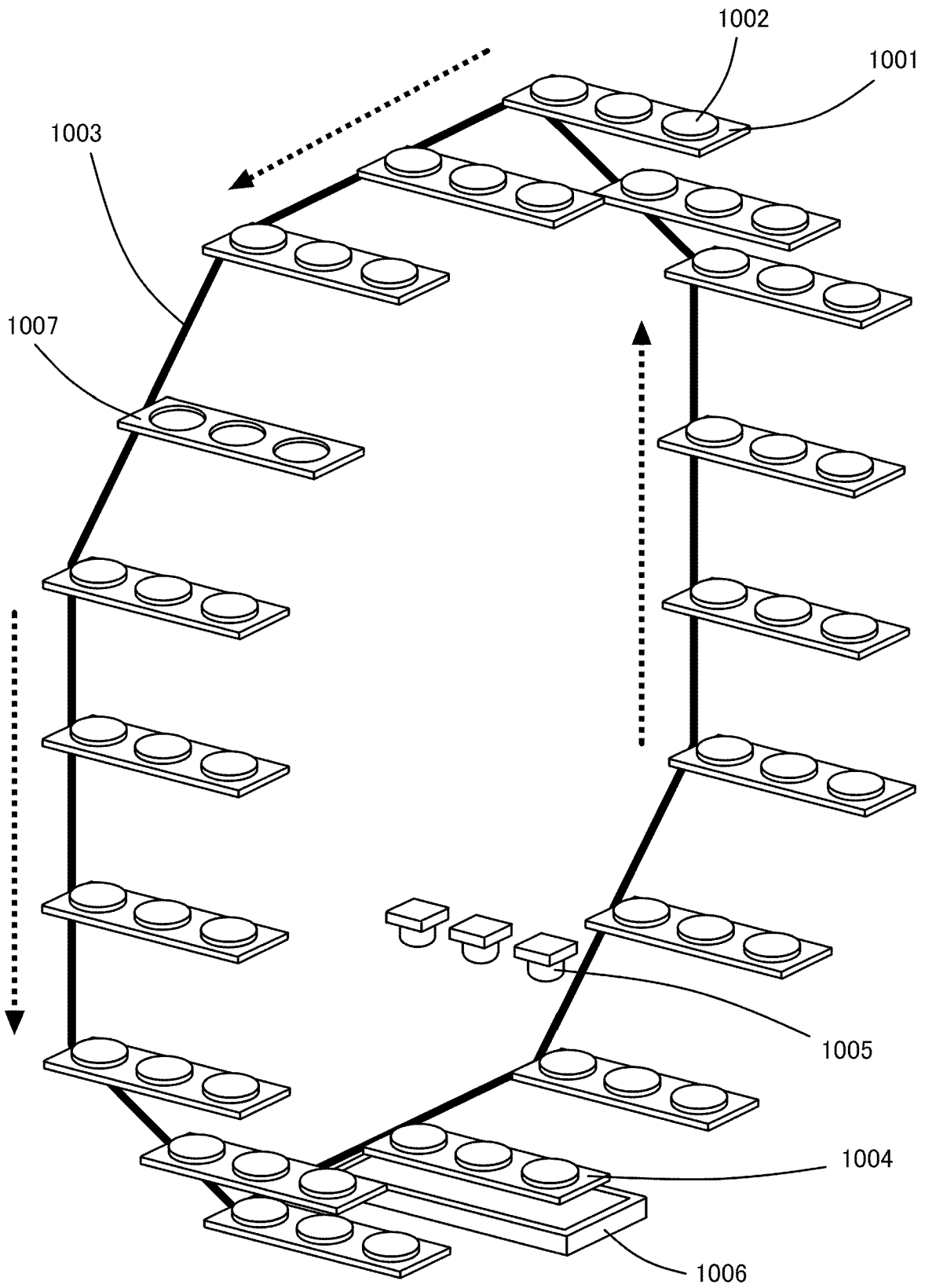
[図8]



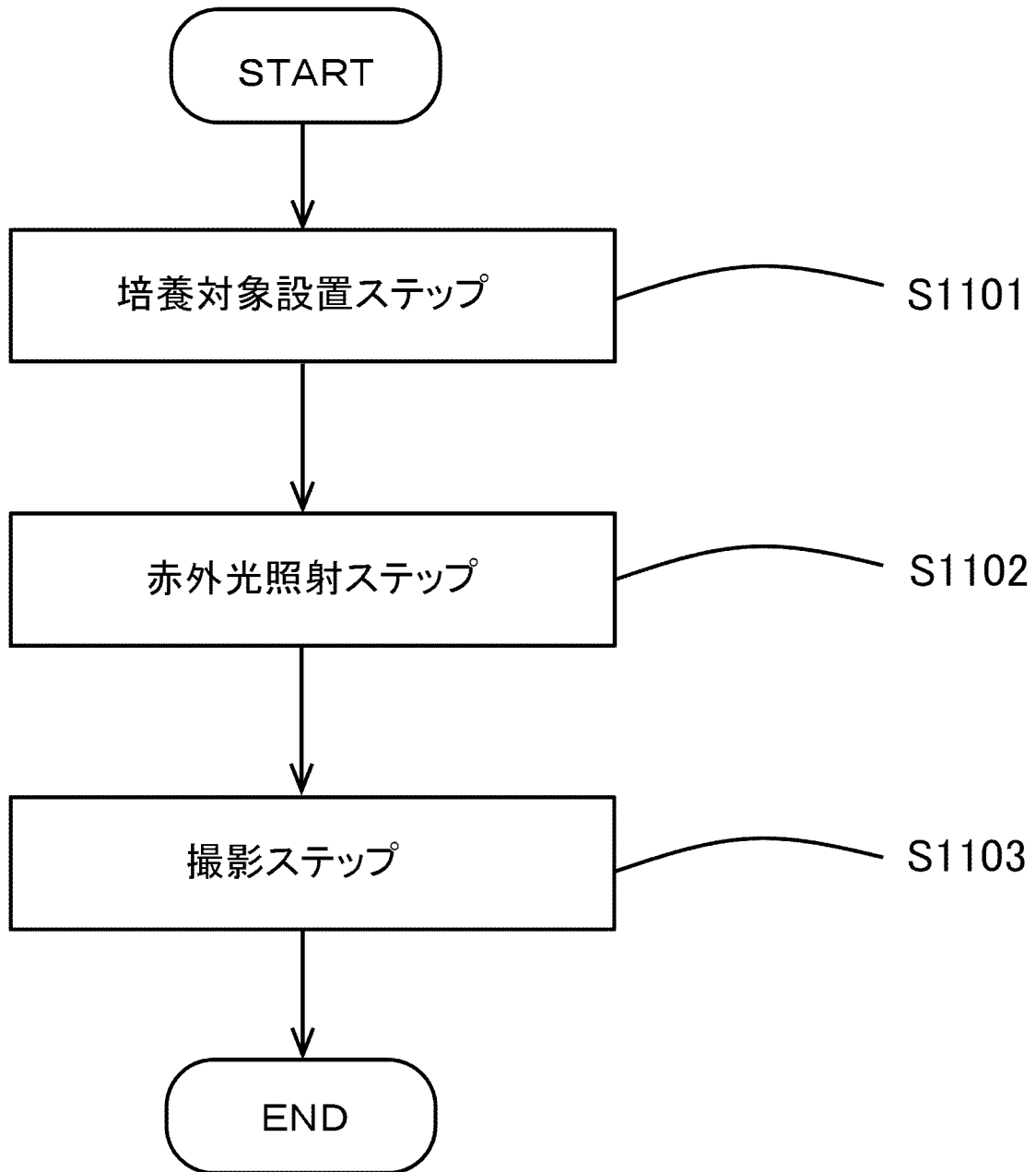
[図9]



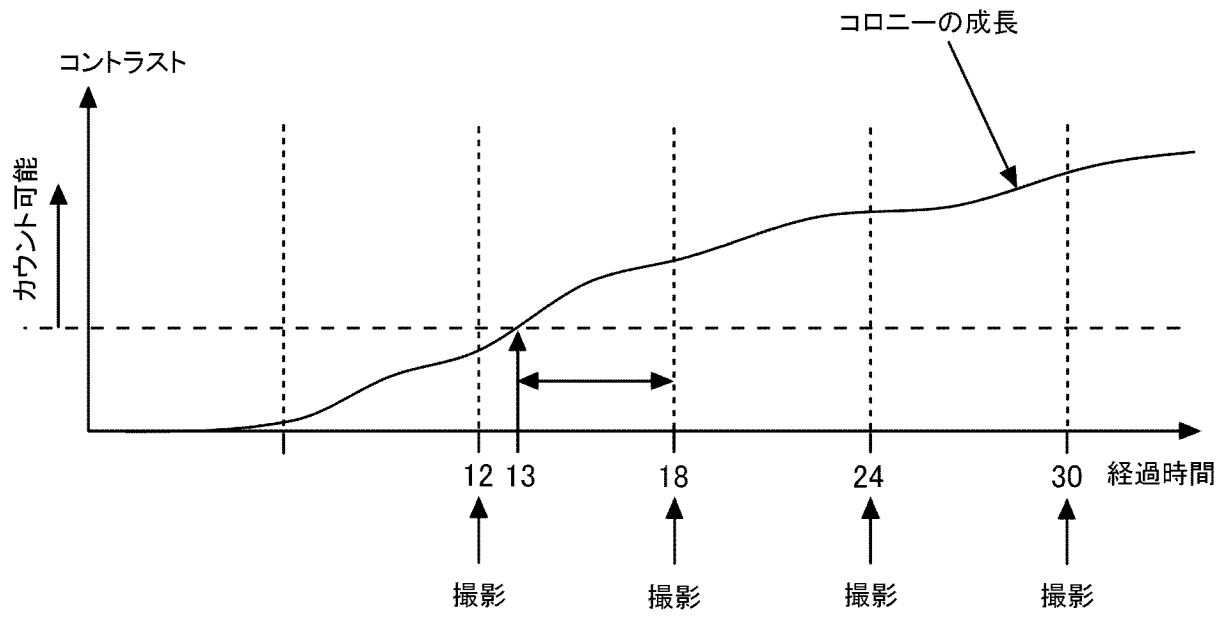
[図10]



[図11]



[図12]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2015/063129

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER C12M1/00(2006.01)i, C12Q1/02(2006.01)i, G01N21/35(2014.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C12M1/00, C12Q1/02, G01N21/35		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2015 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2015 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2015		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	JP 01-222799 A (Kabushiki Kaisha Bio Giken), 06 September 1989 (06.09.1989), claims; page 2, lower right column to page 3, upper left column; example 2; fig. 1(A) (Family: none)	1-3, 6, 8-11 4, 5, 7
Y	JP 2014-528253 A (D.I.R. TECHNOLOGIES (DETECTION IR) LTD.), 27 October 2014 (27.10.2014), claims; examples & US 2014/0252237 A1 & WO 2013/057731 A1 & EP 2768968 A & IL 232015 D	1-11
Y	JP 2010-008492 A (Olympus Corp.), 14 January 2010 (14.01.2010), paragraphs [0023] to [0025]; fig. 1 (Family: none)	1-11
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents:		
"A"	document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"E"	earlier application or patent but published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L"	document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"O"	document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family
"P"	document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	
Date of the actual completion of the international search 28 July 2015 (28.07.15)		Date of mailing of the international search report 11 August 2015 (11.08.15)
Name and mailing address of the ISA/ Japan Patent Office 3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915, Japan		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2015/063129

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2006-330359 A (Olympus Corp.), 07 December 2006 (07.12.2006), claims (Family: none)	4, 5
Y	JP 2006-014825 A (Olympus Corp.), 19 January 2006 (19.01.2006), paragraph [0052] (Family: none)	4, 5
Y	JP 04-218393 A (Kuraray Co., Ltd.), 07 August 1992 (07.08.1992), claims & US 5360722 A & EP 450850 A2 & DE 69115541 C & KR 10-1994-0005602 B	7

<p>A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. C12M1/00(2006.01)i, C12Q1/02(2006.01)i, G01N21/35(2014.01)i</p>												
<p>B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. C12M1/00, C12Q1/02, G01N21/35</p>												
<p>最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの</p> <table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1922-1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971-2015年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2015年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2015年</td> </tr> </table>			日本国実用新案公報	1922-1996年	日本国公開実用新案公報	1971-2015年	日本国実用新案登録公報	1996-2015年	日本国登録実用新案公報	1994-2015年		
日本国実用新案公報	1922-1996年											
日本国公開実用新案公報	1971-2015年											
日本国実用新案登録公報	1996-2015年											
日本国登録実用新案公報	1994-2015年											
<p>国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語) JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)</p>												
<p>C. 関連すると認められる文献</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>引用文献の カテゴリー*</th> <th>引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示</th> <th>関連する 請求項の番号</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X Y</td> <td>JP 01-222799 A (株式会社バイオ技研) 1989.09.06 特許請求の範囲, 第2頁右下欄-第3頁左上欄, 実施例2, 第1図 (A) (ファミリーなし)</td> <td>1-3, 6, 8-11 4, 5, 7</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>JP 2014-528253 A (D. I. R. TECHNOLOGIES (DETECTION IR) LTD.) 2014.10.27, [特許請求の範囲], [実施例] & US 2014/0252237 A1 & WO 2013/057731 A1 & EP 2768968 A & IL 232015 D</td> <td>1-11</td> </tr> </tbody> </table>			引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号	X Y	JP 01-222799 A (株式会社バイオ技研) 1989.09.06 特許請求の範囲, 第2頁右下欄-第3頁左上欄, 実施例2, 第1図 (A) (ファミリーなし)	1-3, 6, 8-11 4, 5, 7	Y	JP 2014-528253 A (D. I. R. TECHNOLOGIES (DETECTION IR) LTD.) 2014.10.27, [特許請求の範囲], [実施例] & US 2014/0252237 A1 & WO 2013/057731 A1 & EP 2768968 A & IL 232015 D	1-11	
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号										
X Y	JP 01-222799 A (株式会社バイオ技研) 1989.09.06 特許請求の範囲, 第2頁右下欄-第3頁左上欄, 実施例2, 第1図 (A) (ファミリーなし)	1-3, 6, 8-11 4, 5, 7										
Y	JP 2014-528253 A (D. I. R. TECHNOLOGIES (DETECTION IR) LTD.) 2014.10.27, [特許請求の範囲], [実施例] & US 2014/0252237 A1 & WO 2013/057731 A1 & EP 2768968 A & IL 232015 D	1-11										
<p><input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。</p>												
<p>* 引用文献のカテゴリー</p> <table border="0"> <tr> <td>「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの</td> <td>「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの</td> </tr> <tr> <td>「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの</td> <td>「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの</td> </tr> <tr> <td>「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)</td> <td>「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの</td> </tr> <tr> <td>「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献</td> <td>「&」 同一パテントファミリー文献</td> </tr> <tr> <td>「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願</td> <td></td> </tr> </table>			「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの	「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの	「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの	「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの	「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)	「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの	「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献	「&」 同一パテントファミリー文献	「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願	
「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの	「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの											
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの	「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの											
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)	「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの											
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献	「&」 同一パテントファミリー文献											
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願												
<p>国際調査を完了した日 28.07.2015</p>	<p>国際調査報告の発送日 11.08.2015</p>											
<p>国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号</p>	<p>特許庁審査官 (権限のある職員) 小石 真弓 電話番号 03-3581-1101 内線 3488</p>	<p>4N 9727</p>										

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリ*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
Y	JP 2010-008492 A (オリンパス株式会社) 2010.01.14 [0023]-[0025], [図1] (ファミリーなし)	1-11
Y	JP 2006-330359 A (オリンパス株式会社) 2006.12.07 [特許請求の範囲] (ファミリーなし)	4, 5
Y	JP 2006-014825 A (オリンパス株式会社) 2006.01.19 [0052] (ファミリーなし)	4, 5
Y	JP 04-218393 A (株式会社クラレ) 1992.08.07 [特許請求の範囲] & US 5360722 A & EP 450850 A2 & DE 69115541 C & KR 10-1994-0005602 B	7