

TSI 寒天培地 (2%NaCl 加)

肉エキス	3g	クエン酸鉄アンモニウム	0.2g
酵母エキス	3g	チオ硫酸ナトリウム	0.2g
ペプトン	20g	フェノールレッド	24mg
乳糖	10g	寒天	12g
白糖	10g	精製水	1,000ml
ブドウ糖	1g		
塩化ナトリウム	<u>20g</u>	pH	7.3

加温溶解し、試験管に分注した後、高压滅菌を行い、半斜面培地とする。

なお、市販の TSI 寒天に塩化ナトリウムを最終濃度 1~2%になるように加えたものを使用してもよい。

③ LIM 培地による試験

LIM 培地に塩化ナトリウムを最終濃度が 1~2%になるように加えたものに、腸炎ビブリオと推定される集落を高層部に穿刺し、35±1℃で 18~24 時間培養後、培地の色が濃い紫色になったものをリジン陽性とする。また、高層部に菌が発育し混濁の認められたものを、運動性陽性とする。さらに、インドール試薬を加えて 5 分以内に赤色したものを陽性とする。

LIM 培地 (2%NaCl 加)

ペプトン	10g	塩化ナトリウム	<u>20g</u>
酵母エキス	3g	プロムクレゾールバーブル	20mg
ブドウ糖	1g	寒天	3g
L-リジン塩酸塩	10g	精製水	1,000ml
L-トリプトファン	0.5g	pH	6.7

加温溶解し、試験管に分注した後、高压滅菌を行い、高層培地とする。

なお、市販の LIM 培地に塩化ナトリウムを最終濃度 1~2%になるように加えたものを使用してもよい。

インドール試薬には、Kovac 法と Ehrlich 法があるが、どちらを使用しても差し支えない。Kovac 試薬は、p-ジメチルアミノベンズアルデヒド 5g を 50℃の水浴中でアミルアルコール 75ml に溶かし、冷やしてから濃塩酸 25ml を加えて作り、遮光して 4℃に保存する。Ehrlich 試薬は、p-ジメチルアミノベンズアルデヒド 1g をエタノール 95ml に溶かし、これに濃塩酸 20ml を加えて作る。

④ 耐塩性試験

Nutrient Broth (Difco, Merck, BBL: 肉エキス 0.3%、ペプトン 0.5%) 又は Lab-Leimco Broth (Oxoid) に塩化ナトリウムをそれぞれ 0%および8%加えたものに、腸炎ビブリオと

推定される菌を接種し、35±1℃で18時間培養し、明瞭な増殖による培地の濁りを確認する。

また、上記Broth以外にペプトン水又はトリプトン水(pH7.2)に、塩化ナトリウムをそれぞれ0%および8%加えたものを使用しても差し支えないが、使用にあたっては腸炎ビブリオ標準菌株を用い、0%で発育しないこと、8%で発育することを確認した後、使用すること。

なお、本試験に際して接種する菌は、普通寒天培地の菌を用い、接種菌量は希釀により濁りが目に見えない程度の少菌量を接種すること。

⑤ Voges-Proskauer (VP) 試験

VP半流動培地に塩化ナトリウムを最終濃度が1~2%になるように加えたものに、腸炎ビブリオと推定される集落を接種し、35±1℃で18~24時間培養後、その上層部に6%α-ナフトール・アルコール液0.2ml及び0.3%クレアチン加40%水酸化カリウム水溶液0.1mlを加え、1時間以内に赤色あるいは深紅色となったものを陽性とする。

VP半流動培地 (2%NaCl 加)

酵母エキス	1g	塩化ナトリウム	<u>20g</u>
カゼインペプトン	7g	寒天	3g
ソイペプトン	5g	精製水	1,000ml
ブドウ糖	10g	pH	7.0

加温溶解し、試験管に分注した後、高圧蒸気滅菌を行う。

なお、市販のVP半流動培地に塩化ナトリウムを最終濃度2%になるように加えたものを使用してもよい。

⑥ チトクローム・オキシダーゼ試験

1w/v%テトラメチル

・フェニルジアミン蒸留水液を染みこませたろ紙をシャーレ内に置き、ろ紙に白金耳(白金製)で普通寒天培地上の菌を塗布する。10秒以内に紫色に変色すれば陽性である。

なお、市販のチトクローム・オキシダーゼ試験用ろ紙を使用してもよい。市販の試験用ろ紙に精製水を数滴滴下し、ろ紙全体を湿らせた後、普通寒天培地上の菌を白金耳で塗布する。

表1 腸炎ビブリオの性状

T S I 寒天				L I M 培地			発育		V P	オキシダーゼ
斜面	高層	硫化水素	ガス	リジン	インドール	運動性	O %	8 %		
赤	黄	-	-	+	+	+	-	+	-	+

腸炎ビブリオ検査方法・定性法

検査材料 25g



アルカリペプトン水(APW) 225mlを加え、
ストマッキング処理

アルカリペプトン水の
食塩濃度は2%(1%も可)



35±1°C 16~18時間 培養



上層の1~2白金耳をTCBS寒天培地または酵素基質培地に塗抹し、
35±1°C 16~18時間 培養



腸炎ビブリオと推定される集落の同定

資料2

腸炎ビブリオ検査方法・定性法

検査材料 25g

アルカリペプトン水(APW) 225mlを加え、
ストマッキング処理

アルカリペプトン水の
食塩濃度は2%(1%も可)

35±1°C 16~18時間 培養

上層の1~2白金耳をTCBS寒天培地または酵素基質培地に塗抹し、
35±1°C 16~18時間培養

腸炎ビブリオと推定される集落の同定

資料 3

B. 腸炎ビブリオ試験法・定量法(作業部会案:ステージ 2)

1. 試験方法

検体 25g に 2%NaCl 加アルカリペプトン水 (pH8.6~8.8, NaCl 1%も可) (APW) 225ml を入れ、ストマッキング処理し、検体の 10 倍希釈液を作成し試料とする。次に検体の 10 倍希釈液 1ml を APW 9ml の入った試験管に入れ、検体の 100 倍希釈液を作成する。

検体の 10 倍希釈液及び 100 倍希釈液を APW 10ml の入った 3 本の試験管にそれぞれ 1ml ずつ接種し、また、検体の 100 倍希釈液を APW 10ml の入った 3 本の試験管に 0.1ml ずつ接種する。

35±1°C、16~18 時間培養後、各試験管の上層の 1~2 白金耳を TCBS 寒天培地、または酵素基質培地に塗抹し、35±1°C、16~18 時間培養する。培地上の腸炎ビブリオと推定される集落を同定し、各段階に希釈した試験管の陽性本数を最確数表にあてはめて、1gあたりの最確数を求める。

25g に APW 225ml を加えた 10 倍乳剤液は、そのまま培養して定性法として利用できる。

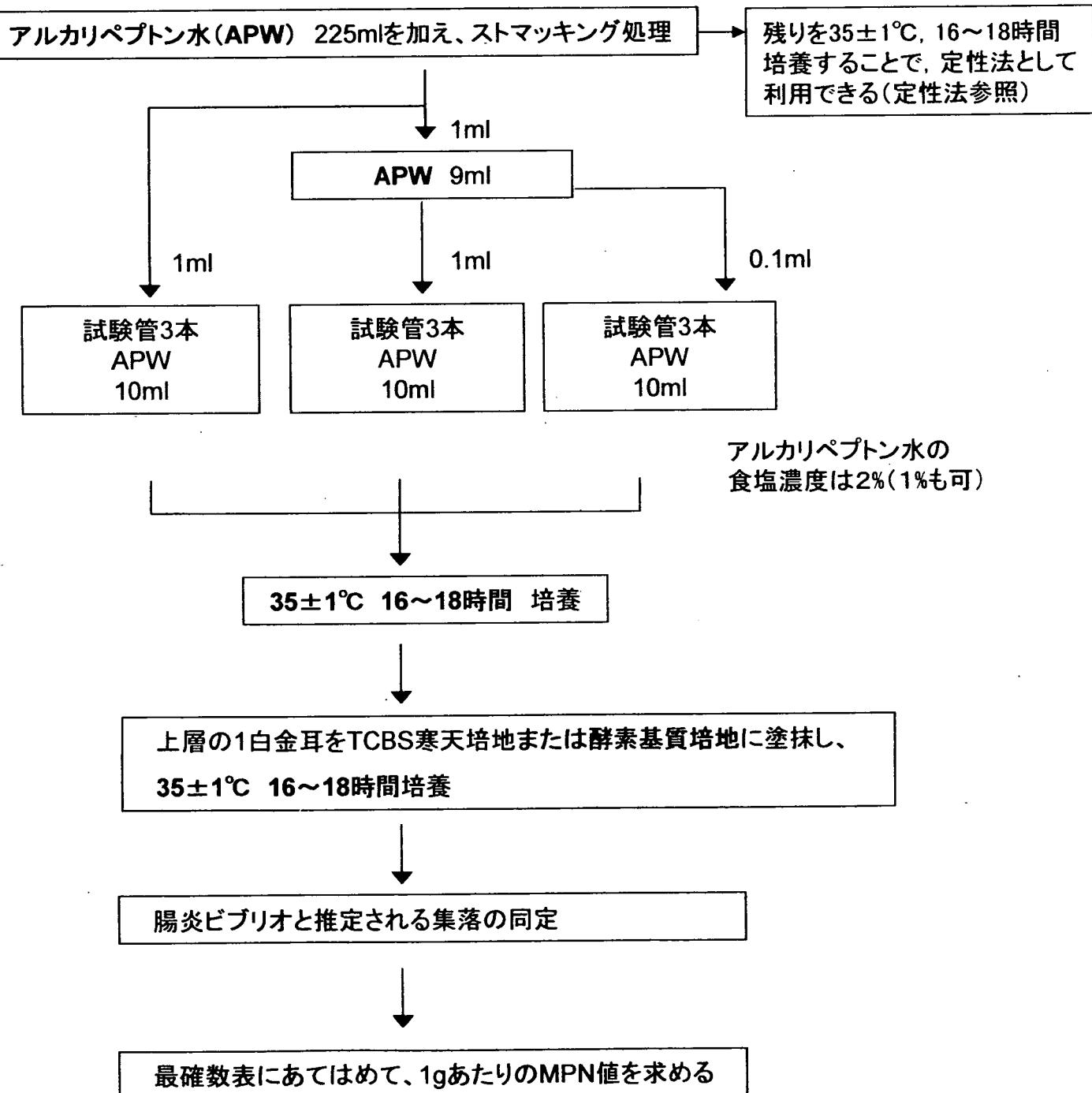
2. 同定

定性法に準ずる。

資料 4

腸炎ビブリオ検査方法・定量法

検査材料 25g



II-4 食品からの微生物検査標準法検討委員会

高鳥 浩介

五十君 静信

厚生労働科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進研究事業）

平成 17～19 年度 分担研究報告書

食品からの微生物検査標準法検討委員会

分担研究者 高鳥 浩介 国立医薬品食品衛生研究所 部長

分担研究者 五十君 静信 国立医薬品食品衛生研究所 室長

研究要旨

食品からの微生物検査標準法検討委員会を開催し、微生物試験法のあり方を議論し、“食品からの細菌検査標準法作成方針”を作成した。検討委員会は、サルモネラ、腸炎ビブリオ、黄色ブドウ球菌の3菌種について作業部会を作り、上記作成方針に従った標準法作成を進めた。検討委員会は合計14回開催し、これらの標準検査法の作成を行うと共に、現在研究班以外で行われている微生物の検査法についても、作成方針に従った手順で検査法が作られる様に働きかけることにし、カンピロバクター検査法についても検討の対象とした。これらの検討により、サルモネラ、黄色ブドウ球菌試験法は、コラボラティブスタディまで行い、試験法を提案した。腸炎ビブリオおよびカンピロバクター試験法は、作業部会案を作成し公開した。

検討委員会委員長

食品衛生管理部 山本 茂貴

副委員長

衛生微生物部 高鳥 浩介

小西 良子

検討委員会事務局

食品衛生管理部 五十君 静信

朝倉 宏

吉岡 宏美

石和 玲子

影山 亜紀子

A. 研究目的

食品からの微生物検査標準法検討委員会で、わが国における食品の細菌検査標準法はどうあるべきかを議論し、その方向性を示す。この方向性に沿った標準法作成の作成方針を作成し、サルモネラ、腸炎ビブリ

オ、黄色ブドウ球菌の3菌種について標準法作成を試みる。

B. 研究方法

これまでに、食品衛生微生物の分野を中心となり微生物検査に関する実績のある研究者を招集し“食品からの微生物検査標準法検討委員”とし、行政官が加わり、委員会を開催した。検討委員会には、延べ24名の専門家が参加した。その他専門家として2名を招聘し意見を求めた（表1）。委員会では、これまでの微生物検査法にかかる問題点を整理し、今後の検査法のあり方にに関する議論を行い、“食品からの細菌検査標準法作成方針”を作成した。これに基づいて、サルモネラ、腸炎ビブリオ、黄色ブドウ球菌の3つの検査法について具体的な試

験法作成を進めた。検討委員会は、合計 14 回開催した。検討委員会は、一般からのオブザーバーとしての参加を受け付けると共に、議論の概要を国立医薬品食品衛生研究所のホームページに公開し、広く意見を求めた。作成した検査法案は、web 上に公開すると共に関連団体に文書にて意見を求めた。

C.研究結果

食品からの微生物検査標準法検討委員会は、微生物試験法のあり方を議論し、“食品からの細菌検査標準法作成方針”を作成し今後の試験法のあり方の方向性を整理した。“食品からの細菌検査標準法作成方針”を基に、サルモネラ、腸炎ビブリオ、黄色ブドウ球菌の 3 つの病原菌を対象として具体的な議論を進めた。サルモネラ検査法はコラボラティブスタディを終了し、最終案としての承認を受けた。黄色ブドウ球菌検査法は、3 つの試験法の検討を行った。直接平板培養法については、コラボラティブスタディまで終了し、選択増菌培養法は作業部会案、MPN 菌数測定法はコラボ案を作成し公開した。腸炎ビブリオは、作業部会案が確定し公開した。カンピロバクター研究班から意見を求められ、カンピロバクター試験法も本検討委員会の方向性で検査法作りを行うことを確認したので、検討委員会で検討を行い、作業部会案を公開した。

検討委員会では、具体的な試験法作成を進めながら “標準法” 作成に当たって守るべき重要な 5 項目を確認しこの方向性から逸脱しないよう検査法を検討した。細菌試験法策定にあたっての重要な 5 項目は以下のようである。

1. 最も基準となる標準的な細菌試験方法は、培養法である。
2. 試験法作成に当たっては作成段階から公開とし、その妥当性を、多くの専門家や技術者に意見を求める。
3. 試験法ができる段階で、その実行性について複数の検査室で実行しバリデーションを行う。
4. よりよい試験法として、必要があれば、常に見直しを行い 2 ~ 3 の手順に従い修正を加える。
5. 國際的に認められている試験法との互換性や、同等性を尊重する。

検討委員会自体の透明性を示すために、これまでの経緯、作成方針、試験法案、検討委員会の議事録概要等を、国立医薬品食品衛生研究所のホームページに公開した。

(<http://www.nihs.go.jp/fhm/kennsahoujindex.html>) 検討委員会を傍聴したいという要望が多かったため、一般の方のオブザーバーとしての参加を認めた。

D.考察

これまで国内の食品における微生物検査法は、作成段階では公開されておらず、実際に検査を行う立場の人の意見が反映されにくかった。検討委員会では、試験法作成の初期段階から広く意見をもとめ、國際的なハーモニゼーションを重要視し、標準法は培養法をゴールドスタンダードとするという統一的な方向性を持って試験法作りを進めた。標準法作成にあたっては、それぞれの試験法が同一の方向性を持って作成されていることは重要であり、検討委員会で合意した “食品からの細菌検査標準法作成方針” に従い試験法作成が進められた。サ

ルモネラ、腸炎ビブリオ、黄色ブドウ球菌の3菌種のそれぞれの作業部会は、実験データによる検証を行いながら、試験法作成を担当した。

原案作成のステージ1では、作業部会が文献調査や情報収集を行い、関連する国際的な標準法の比較表を作成し、国際的な互換性を尊重する。これらの準備された資料を基に委員会で原案とし、インターネットで一般に公開、文書で関連組織に公開する。試験法の方向性が多くの人確認されるものと思われる。

ステージ2では、原案への意見や作業部会での議論から、作業部会に於いて実際に実験を行い、試験法としての細かいプロトコールの検討をおこなう。実験データに裏付けられた作業部会案が出来ることとなる。プロトコールとしては、ほぼ完成する。

ステージ3では、作業部会案に対して出された意見を検討し、委員会でコラボ実施案を作成する。この公開と共に、コラボスタディー協力機関を募集する。実際にコラボに参加し、試験法案のプロトコールを体験することが可能である。

最終ステージは、コラボの結果を統計学等の手法を用いて解析した結果を確認し、

特に問題がなければ、標準法とする。

これらの各ステージで実際の試験法を作りながら個々の問題点のあぶり出しを行い、“食品からの細菌検査標準法作成方針”的妥当性を検証する。作成方針に一部の修正を加え、より実行性の高い作成方針とした（参考資料1）。

E. 結論

食品からの微生物検査標準法検討委員会を開催し、わが国における食品の細菌検査標準法はどうあるべきかを議論した。この方向性に沿った“食品からの細菌検査標準法作成方針”作成し、サルモネラ、腸炎ビブリオ、黄色ブドウ球菌の3菌種について標準法作成を進めた。それについて試験法および試験法案を提案した（表2、プロトコールについては巻末に資料）。外部の研究班から意見を求められたカンピロバクター試験法についても、検討委員会の方向性に従った検査法作成を行った。

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

なし

表1 平成17～19年度食品からの微生物検査標準法検討委員会名簿

委員長	山本 茂貴 (国衛研・食品衛生管理部)
副委員長	高鳥 浩介 (国衛研・衛生微生物部) 小西 良子 (国衛研・衛生微生物部)
研究班班長	宮原 美知子 (国衛研・衛生微生物部)、作業部会
委員	浅尾 努 (大阪府立公衆衛生研究所・日本食品微生物学会) 荒川 英二 (国立感染研・細菌第一部) 作業部会 五十君 静信 (国衛研・食品衛生管理部) 事務局、作業部会 伊藤 武 (財団法人東京顕微鏡院) 甲斐 明美 (東京都健康安全研究センター) 作業部会 春日 文子 (国衛研・食品衛生管理部) 河野 潤一 (神戸大学・農学部) 作業部会 小久保 順太郎 (社団法人日本食品衛生協会) 小崎 俊司 (大阪府立大学 農学部) 品川 邦汎 (岩手大学 農学部) 清水 晃 (神戸大学・農学部) 作業部会 田口 真澄 (大阪府立公衆衛生研究所) 作業部会 塚本 定三 (大阪府立公衆衛生研究所) 作業部会 田中 廣行 (財団法人日本食品分析センター) 丹野 憲二 (ISO/TC34/SC9 国内対策委員会) 藤井 建夫 (山脇学園短期大学) 松岡 英明 (AOAC International Japan Section) 丸山 務 (社団法人日本食品衛生協会) 森 曜子 (財団法人日本冷凍食品検査協会) 渡辺 治雄 (国立感染研・副所長)
行政から	道野 英司 (厚労省・監視安全課) 近藤 卓也 (厚労省・基準審査課) 江島 祐一郎 (厚労省・基準審査課) 人事異動により近藤後任 宮川 昭二 (厚労省・監視安全課)
専門家として	泉谷 秀昌 (国立感染研・細菌第一部) サルモネラ 守山 隆敏 (AOAC International Japan Section) バリデーション

疫所等の協力を受けながら原案の検討箇所を設定し、実験データから細かいプロトコールの検討を行い、重要な指摘がある場合はそれを考慮した“作業部会案”を作成する。作業部会案は、親委員会に提出するとともに、一定期間インターネット上で公開し広く意見を求める。さらに、文書にて第三者組織の意見を求める。

コラボ実施案（ステージ3）

インターネットや第三者組織の意見などを参考とし、親委員会は作業部会案について議論し、“コラボ実施案”とする。コラボスタディーの規模や協力施設の数等を示し、インターネット上で公開し、意見を求める。コラボスタディー参加者を募る。

標準法（最終ステージ）

作業部会は、複数の検査機関でコラボスタディーによりその実行性を評価する。親委員会は、コラボスタディーの結果を受け、作業の進行が方針に従って行われているかの確認を行った後、“標準法”として公開する。

尚、親委員会は、方針通りに作業部会が機能し、標準法作成が順調に行われたかを確認し、不備な点があれば、“食品からの細菌検査標準法作成方針”的見直しを行う。

表2. Webに公開しているそれぞれの試験法の一覧

NIHSJ-01	サルモネラ	コラボ実施案（ステージ3） 既にコラボ実施され、最終案が承認されている。巻末にはこの*最終公開案を載せた。
*NIHSJ-02	カンピロバクター	作業部会案（ステージ2）
*NIHSJ-03	黄色ブドウ球菌	コラボ実施案（ステージ3）
NIHSJ-04	黄色ブドウ球菌	作業部会案（ステージ2）検討中止
*NIHSJ-05	黄色ブドウ球菌	コラボ実施案（ステージ3）
*NIHSJ-06	腸炎ビブリオ	作業部会案（ステージ2）
*NIHSJ-07	腸炎ビブリオ	作業部会案（ステージ2）

* 巻末参照のこと

なお、カンピロバクター作業部会案と黄色ブドウ球菌コラボ実施案2案以外は各試験法の項目にも提示されている。

参考資料1. 食品からの細菌検査標準法作成方針

わが国における食品を対象とした細菌試験法は、食品の規格・基準の定められているものについては基本的に告示法で、またそれぞれ食品衛生上の問題が生じた事例に対応して、病原細菌と原因となりやすい食品の組み合わせによる個々の試験法が通知法により示されている。この告示および通知によって示された方法のみがわが国の公定法と理解されているが、これらは長期にわたり改正が行われていないものがあり、今後国際的に広く認められている試験法との整合性を考慮する必要がある。一方わが国では従来から厚生労働省監修の「食品衛生検査指針・微生物編」があり、ここに記載された方法が標準的なものとされて、広く利用されている現状がある。2004年改訂の「食品衛生検査指針・微生物編」には上記の告示および通知法とわが国で現在広く行われている標準的な細菌試験法が網羅的に収録されているが、個々の細菌の一般的な検出法を示しているにすぎない。食品からの細菌試験は日常の食品の衛生検査と食中毒の原因究明などであるが、その目的によって試験法が異なって当然である。しかしこれらの試験法は全ての試験法が微生物学的な本質を踏まえつつ科学的に検証できる評価を踏まえたもので構成されていなければならない。告示および通知法の見直しや食中毒菌検査の統一化も重要であるが、それを含めた食品にかかる細菌の科学的根拠に基づきバリデイトされた標準的試験法を改めて策定することが急務である。

そこで、標準法検討委員会では、統一した方向性を持った“食品からの細菌検査標準法”を作成することの重要性を確認し、標準法を以下の4つの手順に従って作成することとした。この標準法は、培養法を有する微生物については、原則として培養法を基準として採用し、国際的に広く認められた試験法との互換性を考慮して作成する。プロトコールの作成に当たっては、公開により広く意見を求め、実行性のあるより妥当なプロトコール作りを行う。これらの基本方針が担保されるように、以下の4つのステージを満たし、作成したものを作成法として公開することにした。

原案（ステージ1）

標準法検討委員会（親委員会）は、作業部会を立ち上げる。作業部会は文献調査や情報収集により、関連する国際的な標準法の比較表を作成し、それを基に“原案のたたき台”を親委員会に提出する。親委員会では、このたたき台を議論し、当該試験法の方向性を確認した上で、“原案”としてまとめる。その作成方針を含めて、インターネット上に公開、期間を設定し意見を求める。ここで、文書にて第三者組織（日本食品微生物学会や、衛生微生物技術協議会等）の意見を求める。

作業部会案（ステージ2）

各作業部会は、国立研究機関、大学、地方衛生研究所、食肉検査所、登録検査機関、検

黄色ブドウ球菌試験法 コラボスタディー実行案

Method for enumeration of
coagulase-positive staphylococci in foods

黄色ブドウ球菌の試験法・直接平板培養法

目 次

1. コラボ試験の目的
2. 参考引用規格
3. 実施予定試験所数
4. 試験方法
5. 試験検体
6. 試験菌株
7. 菌接種試料の調製
8. 試料の輸送
9. 試験
10. 試験試料の処理方法
11. 結果の提示
12. 統計

別添. 黄色ブドウ球菌の試験法・直接平板培養法

(ステージ3 : コラボ案) NIHSJ-03-ST3

1. コラボ試験の目的

食品流通経済のグローバル化にある現状を背景として、国際的に互換性のある試験を行うことは重要であり、このような観点からわが国における食品微生物試験法の見直しを行い、信頼性の高い試験法について検討を行ってきた。本コラボ試験においては、黄色ブドウ球菌試験法について検証を行うことを目的とする。本試験においては以下の再現性を確認することを目的とする。

- ① 室内再現性 (Repeatability)
- ② 室間再現性 (Reproducibility)

2. 参考引用規格

国際的に通用する検証を実施するために、コラボの国際規格である ISO16140 に準拠し、また、ISO の考え方を取り入れている AOAC 法のコラボレートスタディーの実施例を参照し実行する。

3. 実施予定試験所数

10ヶ所程度で実施予定

4. 試験方法

以下の試験法について、使用培地等試験法詳細を特定して検査を行い、それぞれの妥当性を検証する。

直接平板培養法における菌数測定法

5. 試験検体

本試験において、SIC コードに基づき、どのカテゴリーに対して検証するか決定する。黄色ブドウ球菌による危害の可能性が高い食材を用いて試験を行う。食品検体は食肉 1 種類につき行う。

6. 試験菌株

本試験では 2 種類の菌株を使用する。

7. 菌接種試料の調製

スパイクによる 2 段階の菌量レベルを検討する。菌液濃度は

- ① 10000-99999 CFU/g × 6 サンプル
- ② 1000-9999 CFU/g × 6 サンプル
- ③ 非スパイク試料 × 6 サンプル

8. 試料の輸送

アイスパックで7°C以下(冷蔵)に保って輸送し、各試験室に到着後は当該菌の増殖しない2-7°Cで冷蔵保存。温度記録をとる。

9. 試験

別添のプロトコールによる。Baird-Parker 寒天培地と3%卵黄加マンニット食塩寒天培地を併用する

試験は、試料が到着後、速やかに開始する。

試験試料の処理方法

10. 試験試料の処理方法

- ① 試料の包装表面をアルコール綿で拭く。
- ② 滅菌したピンセット、ハサミを用い、包装を開く。
- ③ 試料10gをストマッカー袋に入れる。
- ④ 希釀液90mlを加え、1分間ストマッキングして、10倍乳剤とする。

注：コラボでは、試料をストマッカー袋で配布予定のため、①～③は省略

11. 結果の提示

試験結果は、直接平板培養法における菌数測定法では試料1gあたりの黄色ブドウ球菌菌数を示し、生データと共に解析担当者に提出する。

12. 統計

すべての生データを、解析担当者が集め、統計解析を行う。

別添. 黄色ブドウ球菌の試験法・直接平板培養法

(ステージ3:コラボ案) NIHSJ-03-ST3

1. 黄色ブドウ球菌の定義

本試験法でいう黄色ブドウ球菌は、選択培地上で定型的あるいは非定型的な発育集落を示すコアグラーーゼ陽性のグラム陽性球菌を指す。分類学的には黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*) のほか *S. intermedius*, *S. hyicus*, *S. schleiferi* subsp. *coagulans* など数種のコアグラーーゼ陽性ブドウ球菌菌種が検出される可能性がある。

2. 試験の概要

本試験は、試料中にどの程度の黄色ブドウ球菌が存在するかを、直接平板培地に接種した後、形成された黄色ブドウ球菌の集落数を計測することにより定量する定量試験である。試料を秤量し、その9倍量の緩衝ペプトン水 (BPW) を加えて均質化し、BPWを用い10倍段階希釈液を作製する。その0.1mlをそれぞれ2枚の選択分離平板培地に塗抹、培養し、黄色ブドウ球菌の典型的な集落を計数する。試料1gあたりの菌数を選択分離培地上の集落数と希釈値から算出する。試験法は選択分離培地としてISO6888-1にあるBaird-Parker培地を用いる。なお、わが国で従来から広く行われているマンニット食塩寒天培地による検査法は実績、信頼性の上から否定されものではなく同等に扱われるべきものとした。疑わしい集落は、純培養を行った後、コアグラーーゼ試験等で性状を確認し同定する。

3. 使用機器、器具

- ① 乾熱滅菌器、オートクレーブ
- ② ふらん器 (35 ± 1°C)
- ③ 寒天平板用乾燥器あるいはふらん器 (25 ~ 50°C)
- ④ 恒温水槽 (35 ± 1°C)
- ⑤ pHメーター
- ⑥ 天秤
- ⑦ メスシリンダー
- ⑧ 除菌フィルター (0.22 μm)
- ⑨ ストマッカー、ストマッカー袋
- ⑩ 滅菌ハサミ、ピンセット
- ⑪ 試験管 (小、中)、試験管立て
- ⑫ 三角フラスコ