

明 細 書

菌検出器具

技術分野

本発明は、病原性菌、特に食中毒菌や耐性菌、例えばメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; MRSA)などを簡便且つ手軽に検出および／又は同定することが可能な選択的菌検出器具に関し、より具体的には、長期の保存性も期待でき、何時でも必要なときに直ぐさま使用することができ、その持ち運びが便利で容易な形態となっており、さらに簡便な操作で安全に食中毒菌など有害菌を検出・同定することが可能で、そしてその検査の後も安全確実であって猶かつ簡単に廃棄処理を行うことのできる、特に個人的・家庭的な使用にも適した選択的菌検出器具に関する。

背景技術

生活環境に存在する病原性微生物は、近年の医療の高度化、治療の進歩、特に抗菌剤や抗生物質の発見及び開発などにより、さらには衛生の改善などにより、かなりの程度克服されてきてはいるが、一旦発生すると大きな被害や、取返しのつかない問題を与える場合もあり、依然大きな問題を提起している。

こうした普段我々の周りに存在した時に、問題となる病原性微生物としては、食中毒起因菌や特に抗生物質に耐性を有する菌、例えばメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) などであり、一度に大量の感染者が発生するとか、病院などでの感染の問題とかがある。

飲食物の摂取、すなわち「食」動作は、ヒトを始めとする動物に欠かすことができないものであるので、近年の科学の進歩・技術の高度化にもかかわらず、飲食物の摂取に起因する中毒たる「食中毒」は、現在でも完全に防ぐことが困難である。他方、このような食中毒の防止は、最近の製造物責任法 (PL法) の施行により、更に一層その重要性を増している。

食中毒は、その原因に基づいて自然毒（フグ毒、キノコ毒等）による食中毒、飲食物の腐敗（飲食物の分解物等）による食中毒、および飲食物への細菌（ブドウ球菌、サルモネラ菌、腸炎ビブリオ等）の混入ないし繁殖による食中毒の３種類に大別されるが、これらの食中毒のうち、自然毒による食中毒は原因となる毒を含有する飲食物の摂取を避けることによって容易に回避できる。また、該飲食物の外観、匂い等の変化に基づく飲食物の腐敗の検出は一般に容易であるため、飲食物の腐敗による食中毒を回避することも、比較的容易である場合が多い。

これら２種類の食中毒とは対照的に、細菌による食中毒（すなわち細菌性食中毒）においては、該細菌の飲食物への混入ないし繁殖が通常は不可視的であり、しかも、該混入ないし繁殖の検出が専門家の関与なしには極めて困難である。したがって、この細菌性食中毒は、回避することが最も困難な食中毒である。

食堂、弁当の仕出し業、給食センター等の大量の飲食物を供給する施設における食中毒の発生は、著しく多人数に対して生じるし、その症状も猛烈な嘔吐、下痢、腹痛、高熱等の激しいものであるため、特に重大な問題（該施設の長期間の業務停止等）を生じ易い。またこうした食中毒起因菌は、感染したヒトの体内でエンテロトキシンなどの毒素を産生することから、感染後の治療を図ることは勿論ではあるが、しばしばその治療に困難を伴うことがあるという問題もある。そこでそのような原因となる菌を早期に発見し、消毒などに的確な防止策をとり予防することがおおいに必要である。

抗菌剤や抗生物質の使用により、病気、殊には伝染病などの感染症は大幅に減少したが、一方では二次的な現象として多くの耐性菌が出現してきて、大きな問題となってきている。強力な抗生物質を開発しても直ぐにそれに対する耐性が現れるというような問題もあり、更にはそうした菌による病院内感染が大きな問題となっている。抗生物質に耐性を有する菌は、重症患者を含めた病院の患者や高齢者などでは、抵抗力が弱っていることもあり、難治性感染症を引き起こし、一旦その感染が判明した場合にも有効な治療法がないという点で大きな問題となっている。こうした耐性菌による院内感染の防止のためには、そのような原因となる菌をその感染初期において特定すると共にその存在を早期に発見し、消毒など

により有効且つ適切に予防することが必要である。したがって、病院などでは定期的にこうした菌が医療環境に現れたか否かを検査している必要がある。

従来より、食中毒の予防の手段は、一般的な予防対策（例えば、包丁、マナ板等の調理器具を清潔に保つ、調理に関与する人の手指を清潔に保つ等）による以外にはなかった。現状においても、食中毒が発生した場合には、該発生場所を管轄する保健所の調査（原因と見られる飲食物に付着した細菌の培養等）によって原因菌を検出・確認する、すなわち事後的な対策にならざるを得ない状況である。加えて、こうした保健所の調査に基づく原因菌の検出・確認では、通常著しく長期間（例えば、1～2週間前後）を要するのが通例である。更には、保健所の調査には「所定の手続」を取ることが必要とされるのみならず、名譽的ないしは商権上の問題（例えば、「評判」による顧客の完全な喪失）もあって、必ずしも十分に活用されているとは言えない。そして日常的な対策という観点からも、必ずしも簡単に検出確認をするという訳にはいかない。

こうした保健所や病院などの専門機関での調査では、上記のような各種の検体、そして患者検体や医療環境から採取した検体を選択培地を用いた寒天平板上で培養し、培地に形成されたコロニーを目視観察したり、そうして培養された菌をその他の検知確認手段を用いて確認する方法が採用されていた。さらには最近では、ポリメラーゼ・チェーン・リアクション（以下、PCR という）を用いた判定方法も採用されている。しかしながら、上記従来の方法は、いずれも操作が煩雑であり、寒天培地上に生育したコロニーを判定するため、検知にあたり専門的な技術や熟練を必要としていた。またその検体の採取から培養までの操作についても専門的な技術や熟練、さらに装置などが必要とされ、全体的にその検知のための費用が高くつくなどの欠点も有していた。さらにPCR を用いた方法では、これまた専門的な技術や熟練、さらに装置などが必要とされ、また対象菌によっては非病原性菌との区別が非常に困難であるとの問題もある。

こうした点を解決しうる装置として、例えば特開昭62- 171671号などには、液

体培地をカプセルに収容し、さらに菌採取用のタンポンと共に該カプセル容器内に収容した装置が提案されている。しかしながら、こうした装置では、菌の培養後には、それは病原性菌を含むことから容易にそれを廃棄できず、一旦培養に使用した容器を開栓して菌を含む培養液に消毒液をピペットなどで加えて消毒処理を施してから廃棄していた。病原性菌を含む培養系を廃棄するためとはいえ開栓などして一旦開放系にするのは、煩雑であるばかりでなく、危険を伴うし、専門的な技術や熟練、さらに装置などが必要とされることにもなる。さらに消毒液を該培養用の容器とは別に何時も用意しておかなければならず、携帯性とか、取り扱いの簡便性という点でも問題であった。

発明の開示

本発明の目的は、簡便な操作で病原性菌、例えば食中毒菌とか、耐性菌などを検出・同定することが可能であり、さらにその使用後安全に且つ便利に廃棄処理できる菌検出器具を提供することにある。

本発明の他の目的は、病院で日常的に使用するばかりでなく、個人的・家庭的な使用にも適しており、それでいて廃棄するなどの処分を簡単に安心して誰にでもできる菌検出器具を提供することにある。

本発明の更に他の目的は、その取り扱いが簡単で且つ何時でも使用することができて、病原性菌に関連しそれに対し事前のないし自発的に対策を取ることを極めて容易とすると共に、その使用後の器具を簡単に且つ安全に廃棄可能にできる菌検出器具を提供することにある。

本発明者は鋭意研究の結果、互いに接触した際に検出対象の病原性菌、例えば特定の食中毒菌や特定の抗生物質に対する耐性菌の培養に適した培養条件を与えるべき培地および菌採取部を互いに非接触に配置し、且つ、菌検出のための培養時には、これらの特定の培地および菌採取部を互いに接触するように設けた比較的便利な菌検出器具の特徴をより一層生かし、かつ安全で簡単にその使用済みの器具の処分、特に消毒処理をできるように構成することが、上記の目的達成に極めて効果的であることを見出した。

本発明の菌検出器具は上記の知見に基づくものであり、より詳しくは、本発明は

〔１〕 （ａ）検出すべき菌を培養するために使用される培地を菌培養の間保持するための容器、

（ｂ）菌採取部、

（ｃ）検出すべき菌を培養するために使用される培地を菌の培養時まで菌採取部と非接触的に収容することを可能にする手段、及び

（ｄ）培養後の培地を消毒する手段

を少なくとも有することを特徴とする菌検出器具、

〔２〕 培養後の培地を消毒する手段（ｄ）が、検出すべき菌の培養後まで消毒剤を菌と非接触的に収容することを可能にする手段を含むものであることを特徴とする上記〔１〕記載の菌検出器具、

〔３〕 菌培養後に菌培養に使用された培地と消毒剤とが、外力の作用により互いに一体的に接触しうるようにされたものであることを特徴とする上記〔１〕又は〔２〕記載の菌検出器具、

〔４〕 菌培養時に菌採取部（ｂ）と検出すべき菌を培養するために使用される培地とが、外力の作用により互いに一体的に接触しうるようにされたものであることを特徴とする上記〔１〕～〔３〕のいずれか一記載の菌検出器具、

〔５〕 （ａ）一方の端に開口を有する中空容器；

（ｂ）該中空容器内に配置された菌採取部；

（ｃ）菌の培養時に該菌採取部と接触するように配置されてなり且つ菌の培養のための培地；及び

（ｄ）菌の培養後に菌培養培地と接触するように配置された消毒剤を含有することを特徴とする上記〔１〕～〔４〕のいずれか一記載の菌検出器具、

〔６〕 抗生物質が、前記培地に添加されてなる上記〔１〕～〔５〕のいずれか一記載の菌検出器具、

〔７〕 抗生物質を包含してなり、該抗生物質及び培地は少なくともその一部が菌の培養時に外力の作用により互いに一体的に接触するものであり、且つ少な

くとも前記抗生物質と培地とが非接触的に収容容器に配置されていることを特徴とする上記〔1〕～〔6〕のいずれか一記載の菌検出器具、

〔8〕 菌を培地で培養して培地の変化を観察することにより菌を検知するための器具であって、(i) 菌採取部、(ii) 抗生物質、(iii) 培地、及び(iv) 消毒剤を包含してなり、その(i) 菌採取部、(ii) 抗生物質、及び(iii) 培地は少なくともその一部が菌の培養時に外力の作用により互いに一体的に接触するものであり、少なくとも前記(ii) 抗生物質と前記(iii) 培地とが非接触的に収容容器に配置されており、そして菌培養後は少なくとも培養された菌と(iv) 消毒剤とが外力の作用により互いに一体的に接触するものであり、少なくとも前記(iv) 消毒剤と前記(iii) 培地とは非接触的に収容容器に配置されていることを特徴とする上記〔1〕～〔7〕のいずれか一記載の菌検出器具、

〔9〕 前記抗生物質が、(1) 前記容器内に配置されてなるか、(2) 前記菌採取部に付与されてなるか、あるいは(3) 前記容器の内壁にコーティングされてなる上記〔1〕～〔5〕及び〔7〕～〔8〕のいずれか一記載の菌検出器具、

〔10〕 前記抗生物質が、前記中空容器内に配置された他の部材に付与されてなる上記〔1〕～〔5〕及び〔7〕～〔9〕のいずれか一記載の菌検出器具、

〔11〕 前記菌採取部が、少なくとも内側材と外側材とを含む多重構造を有してなり、該内側材に前記抗生物質が配置されてなる上記〔1〕～〔5〕及び〔7〕～〔9〕のいずれか一記載の菌検出器具、

〔12〕 前記培地が、菌の増殖に起因する変化に基づいて色調を変化させる物質を含有してなる上記〔1〕～〔11〕のいずれか一記載の菌検出器具、

〔13〕 該容器が密閉用蓋体を有するものであり、該蓋体内に前記培地が袋状部材に内包されて配置されている上記〔1〕～〔12〕のいずれか一記載の菌検出器具、

〔14〕 前記袋状部材と中空容器との間に、穴あき部材が配置されている上記〔13〕記載の菌検出器具、

〔15〕 前記穴あき部材の下方に、前記菌採取部を伝う培地の中空容器中へ

の落下を促進するガイド部材が配置されている上記〔14〕記載の菌検出器具、

〔16〕 病原性大腸菌、黄色ブドウ球菌、腸炎ビブリオ、およびサルモネラ菌からなる群から選ばれる少なくとも1種の菌に対する培養選択性を有する上記〔1〕～〔15〕のいずれか一記載の菌検出器具、

〔17〕 密閉下に培養に使用した培地の消毒処理を行うことが可能な構造であることを特徴とする上記〔1〕～〔16〕のいずれか一記載の菌検出器具、及び

〔18〕 菌採取部による菌採取処理後は、密閉下に (i) 容器内への培地の添加、(ii) 培養処理、(iii) 菌体の目視検出及び (iv) 培養に使用した培地の消毒処理を少なくとも行うことが可能な構造であることを特徴とする上記〔1〕～〔17〕のいずれか一記載の菌検出器具を提供する。

本発明の態様としては、例えば、

〔19〕 (i) 培地を収容して菌の培養を行うための空間を有する容器と、
(ii) 該容器の開口部と係合して該容器の開口部を外界に対して密封する蓋体とからなり、該蓋体は

(A) 培地を収容するための第一の袋状部材と

(B) 消毒剤を収容するための第二の袋状部材と

を有する容体であり、

(a) 該容体には外力の作用で内部の袋状部材を破り、該袋状部材内の内容物を出すための機能が付与されているもので、

(b) 該第二の袋状部材は該第一の袋状部材とは独立して破られ、該第二の袋状部材内の内容物を出すことができるもので、

(c) 該容器の開口部との該蓋体の係合部あるいはその近傍には、該袋状部材を該蓋体内に保持するための、仕切り部が形成されているか又は仕切り部材が配置され、

(d) 該仕切り部あるいは該仕切り部材には、培地を収容して菌の培養を行うための該容器の空間の側に菌採取部が突き出るように装着されており、

(e) 該菌採取部の先端部は、該容器が培地を収容した場合には、菌の培

養を可能とするに十分な程度該培地と接触できるものであり、

(f) 該仕切り部あるいは該仕切り部材には、該蓋体と該容器との間で培地及び消毒剤の流通が可能のように貫通孔が設けてあることを特徴とする菌検出器具、

〔20〕 第一の袋状部材及び第二の袋状部材は、それぞれガラス製のアンプルであり、蓋体は可撓性材料からなるもので、該蓋体に外力を作用させて該第一の袋状部材を破ってその内容物たる培地を出した場合にも、該第二の袋状部材を破損することなく、その内容物たる消毒剤を収容したまま保持できるものであることを特徴とする上記〔19〕記載の菌検出器具、

〔21〕 蓋体は、第一の袋状部材を収容する第一の区画と、第二の袋状部材を収容する第二の区画とから構成され、該第一の区画には該第一の袋状部材を破るための第一の押し下げ部材が設けられ、該第二の区画には該第二の袋状部材を破るための第二の押し下げ部材が設けられていることを特徴とする上記〔19〕記載の菌検出器具、

〔22〕 図6～11で示される構造の器具あるいは培養した菌の殺菌処理に関してそれと実質的に同等の機能を有することを特徴とする菌検出器具、

〔23〕 蓋体は、

(a) 第一の袋状部材を収容する第一の区画を構成する第一の蓋体構成部材と、

(b) 第二の袋状部材を収容する第二の区画を構成する第二の蓋体構成部材と、そして

(c) 該第二の蓋体構成部材の一端であって、該第一の蓋体構成部材との嵌合側と反対の側に摺動可能に嵌合したキャップ部材とから構成され、

第一の蓋体構成部材並びに第二の蓋体構成部材の、培地を収容して菌の培養を行うための空間を有する容器側のそれぞれの端部あるいはその近傍には、各該袋状部材を保持するための、仕切り部が形成されているか又は仕切り部材が配置され、

該第一の蓋体構成部材は該第二の蓋体構成部材の一端と摺動可能に嵌合し、

該第二の蓋体構成部材を外力により該第一の蓋体構成部材側に摺動せしめて、該第一の袋状部材を破壊してその内容物たる培地を出すことができ、

該キャップ部材を外力により該第二の蓋体構成部材側に摺動せしめて、該第二の袋状部材を破壊してその内容物たる消毒剤を出すことができ、

該仕切り部あるいは該仕切り部材には、培地及び消毒剤の流通が可能なように貫通孔が設けてあることを特徴とする上記〔19〕記載の菌検出器具、

〔24〕 該第一の蓋体構成部材と該第二の蓋体構成部材の一端との嵌合が、螺合式で、外力により該第二の蓋体構成部材の本体を該第一の蓋体構成部材に対して回転することで力を生ぜしめ、該第一の袋状部材を破壊してその内容物たる培地を出すことができるものであることを特徴とする上記〔23〕記載の菌検出器具、

〔25〕 該第二の蓋体構成部材と該キャップ部材との嵌合が、螺合式で、該キャップ部材を該第二の蓋体構成部材に対して回転することで外力を生ぜしめ、該第二の袋状部材を破壊してその内容物たる消毒剤を出すことができるものであることを特徴とする上記〔23〕記載の菌検出器具、

〔26〕 第一の蓋体構成部材並びに第二の蓋体構成部材は円筒状本体から構成されているものであることを特徴とする上記〔24〕記載の菌検出器具、

〔27〕 図12あるいは図13で示される構造の器具あるいは培養した菌の殺菌処理に関してそれと実質的に同等の機能を有することを特徴とする菌検出器具、

〔28〕 蓋体は、

(a) 第一の袋状部材を収容する第一の区画と、第二の袋状部材を収容する第二の蓋体構成部材を収容する第二の区画とを有する第一の蓋体構成部材と、

(b) 該第二の蓋体構成部材と、

(c) 該培地を収容して菌の培養を行うための空間を有する容器側と反対の側であって且つ該第二の蓋体構成部材の一端に摺動可能に嵌合したキャップ部材とから構成され、

第一の蓋体構成部材並びに第二の蓋体構成部材の、培地を収容して菌の培養を行うための空間を有する容器側のそれぞれの端部あるいはその近傍には、各該

袋状部材を保持するための、仕切り部が形成されているか又は仕切り部材が配置され、

該第一の蓋体構成部材は該第二の蓋体構成部材の一部と摺動可能に嵌合し、該第二の蓋体構成部材を外力により該第一の蓋体構成部材側に摺動せしめて、該第一の袋状部材を破壊してその内容物たる培地を出すことができ、

該キャップ部材を外力により該第二の蓋体構成部材側に摺動せしめて、該第二の袋状部材を破壊してその内容物たる消毒剤を出すことができ、

該仕切り部あるいは該仕切り部材には、培地及び消毒剤の流通が可能なように貫通孔が設けてあることを特徴とする上記〔19〕記載の菌検出器具、

〔29〕 該第一の蓋体構成部材と該第二の蓋体構成部材の一部との嵌合が、螺合式で、該第二の蓋体構成部材の本体を該第一の蓋体構成部材に対して回転することで外力を生ぜしめ、該第一の袋状部材を破壊してその内容物たる培地を出すことができるものであることを特徴とする上記〔28〕記載の菌検出器具、

〔30〕 該第二の蓋体構成部材と該キャップ部材との嵌合が、螺合式で、該キャップ部材を該第二の蓋体構成部材に対して回転することで外力を生ぜしめ、該第二の袋状部材を破壊してその内容物たる消毒剤を出すことができるものであることを特徴とする上記〔28〕記載の菌検出器具、

〔31〕 第一の蓋体構成部材並びに第二の蓋体構成部材は円筒状本体から構成されているものであることを特徴とする上記〔28〕記載の菌検出器具、

〔32〕 第二の蓋体構成部材の本体部分の大部分が、第一の蓋体構成部材の内に收容されているものであることを特徴とする上記〔28〕記載の菌検出器具、

〔33〕 図14で示される構造の器具あるいは培養した菌の殺菌処理に関してそれと実質的に同等の機能を有することを特徴とする菌検出器具、

〔34〕 蓋体は、

(a) 第一の袋状部材と第二の袋状部材とを並置收容してなる容体と、

(b) 該培地を收容して菌の培養を行うための空間を有する容器と反対側の該容体の頂部に摺動可能に嵌合された二つの破壊治具とから構成されてなり、

該破壊治具は、互いに独立して該容体中に外力により摺動して押し込められて、先ず第一の破壊治具では該第一の袋状部材を破壊してその内容物たる培地を出すことができ、次に第二の破壊治具では該第二の袋状部材を破壊してその内容物たる消毒剤を出すことができ、

該仕切り部あるいは該仕切り部材には、培地及び消毒剤の流通が可能なように貫通孔が設けてあることを特徴とする上記〔19〕記載の菌検出器具、

〔35〕 該破壊治具は、該容体の頂部に外力で押し込みできるように配設されていることを特徴とする上記〔34〕記載の菌検出器具、

〔36〕 該破壊治具は、該容体の頂部に回転ネジ式に押し込みできるように配設されていることを特徴とする上記〔34〕記載の菌検出器具、

〔37〕 該容体の外形は、直方体に近似した構造であることを特徴とする上記〔34〕記載の菌検出器具、

〔38〕 図15で示される構造の器具あるいは培養した菌の殺菌処理に関してそれと実質的に同等の機能を有することを特徴とする菌検出器具、

〔39〕 蓋体は、第一の袋状部材と第二の袋状部材とを並置収容してなる容体からなり、

該容体は該袋状部材の位置を規制する保持区画を構成する保持部材と、該保持区画に対して外力により回転可能である可動区画を構成する可動部材とからなるものであり、

該容体の内側には該袋状部材を破壊するための破壊治具が設けられており、

該容体の可動部材を回動することにより、該第一の袋状部材と該第二の袋状部材とのいずれかを該破壊治具により互いに独立して破壊できるものであり、

該仕切り部あるいは該仕切り部材には、培地及び消毒剤の流通が可能なように貫通孔が設けてあることを特徴とする上記〔19〕記載の菌検出器具、

〔40〕 該容体の可動部材の内側に破壊治具が設けられていることを特徴とする上記〔39〕記載の菌検出器具、

〔41〕 該容体は円筒状であり、該容体の可動部材を回動することにより、回転方向に応じて該第一の袋状部材と該第二の袋状部材とのいずれかを互いに独立して破壊できるものであることを特徴とする上記〔39〕記載の菌検出器具、

及び

〔4 2〕 図 1 6 で示される構造の器具あるいは培養した菌の殺菌処理に関してそれと実質的に同等の機能を有することを特徴とする菌検出器具が挙げられる。

本発明のより具体的な態様では、

〔4 3〕 (a) 検出すべき菌を培養するために使用される培地を菌培養の間保持するための円筒状の中空容器、

(b) 棒状部材と菌採取端とから構成される菌採取部、

(c) 菌採取部が取り付けられている蓋体であって、該蓋体には少なくとも二つの袋状部材が収納されており、第一の袋状部材は培地を収容するもので、第二の袋状部材は消毒・殺菌剤を収容するものであり、そして

(d) 該中空容器 (a) の口を栓している蓋体を取り外すこと無く、第一の袋状部材に内包されている培地を該菌採取端に接触せしめることができ、且つ第二の袋状部材に内包されている消毒・殺菌剤を該中空容器内の菌に接触せしめて消毒・殺菌処理ができることを特徴とする菌検出器具、

〔4 4〕 蓋体が外力により容易に変形することのできる材料から構成され、第一の袋状部材及び第二の袋状部材は外力により容易に破壊して液体内容物を放出することのできるものであることを特徴とする上記〔4 3〕記載の菌検出器具、

〔4 5〕 蓋体はその中空容器との係合部側に仕切り部材が配置されているもので、該仕切り部材は第一の袋状部材及び第二の袋状部材を蓋体内に収容しとどめている働きをしていることを特徴とする上記〔4 3〕記載の菌検出器具、

〔4 6〕 仕切り部材は蓋体の中空容器との係合部側において該蓋体と係合することのできるものであることを特徴とする上記〔4 3〕記載の菌検出器具、及び

〔4 7〕 蓋体は第一の袋状部材及び第二の袋状部材をそれぞれ独立に外力により破壊して液体内容物を放出することできるように構成されたものであることを特徴とする上記〔4 3〕記載の菌検出器具が提供される。

本発明のより具体的な態様では、

〔48〕 蓋体は、

(a) 第一の袋状部材を収容する第一の区画を構成する第一の蓋体構成部材と、

(b) 第二の袋状部材を収容する第二の区画を構成する第二の蓋体構成部材と、そして

(c) 該第二の蓋体構成部材の一端であって、該第一の蓋体構成部材との嵌合側と反対の側にあり且つ回転可能に螺合したキャップ部材とから構成され、

第一の蓋体構成部材並びに第二の蓋体構成部材の、培地を収容して菌の培養を行うための空間を有する容器側のそれぞれの端部あるいはその近傍には、各該袋状部材を保持するための、仕切り部が形成されているか又は仕切り部材が配置され、

該第一の蓋体構成部材は該第二の蓋体構成部材の一端と摺動可能に嵌合し、該第二の蓋体構成部材を外力により該第一の蓋体構成部材側に摺動せしめて、該第一の袋状部材を破壊してその内容物たる培地を出すことができ、

該キャップ部材はそれを外力により回転せしめて該第二の蓋体構成部材側に押し込み、該第二の袋状部材を破壊してその内容物たる消毒剤を出すことができ、

該仕切り部あるいは該仕切り部材には、培地及び消毒剤の流通が可能なように貫通孔が設けてあることを特徴とする上記〔19〕記載の菌検出器具、

〔49〕 該第一の蓋体構成部材と該第二の蓋体構成部材の一端との嵌合を、各部材間の接触面に設けられた凹凸を介して確保してあり、外力により該第二の蓋体構成部材の本体を該第一の蓋体構成部材側に摺動することで、該第一の袋状部材を破壊してその内容物たる培地を出すことができるものであることを特徴とする上記〔48〕記載の菌検出器具、

〔50〕 該第二の蓋体構成部材と該キャップ部材との嵌合が、螺合式で、該キャップ部材を該第二の蓋体構成部材に対して外力により回転することでキャッ

ブ部材を容器側に押し込み、該第三の袋状部材を破壊してその内容物たる消毒剤を出すことができるものであることを特徴とする上記〔48〕記載の菌検出器具、

〔51〕 第一の蓋体構成部材並びに第二の蓋体構成部材は円筒状本体から構成されているものであることを特徴とする上記〔48〕記載の菌検出器具、

〔52〕 図17あるいは図18で示される構造の器具あるいは培養した菌の殺菌処理に関してそれと実質的に同等の機能を有することを特徴とする菌検出器具、

〔53〕 図19あるいは図20で示される構造のキャップ部材あるいはそれと実質的に同等の機能を有するものを備えたことを特徴とする上記〔52〕記載の菌検出器具、

〔54〕 図22あるいは図23で示される構造の蓋体構成部材あるいはそれと実質的に同等の機能を有するものを備えたことを特徴とする上記〔52〕記載の菌検出器具、

〔55〕 図26あるいは図27で示される構造の蓋体構成部材あるいはそれと実質的に同等の機能を有するものを備えたことを特徴とする上記〔52〕記載の菌検出器具、

〔56〕 該第一の蓋体構成部材側の凸部として781、782といった設置領域の異なる構造とし、該凸部と嵌合する凹部を該第二の蓋体構成部材の各部材間の接触面に設け、

使用前には該凸部と該凹部を嵌合しないように該第一の蓋体構成部材と該第二の蓋体構成部材とを係合して、該第二の蓋体構成部材が該第一の蓋体構成部材内に摺動しないように固定されることが可能で、

使用時に該第二の蓋体構成部材を回転させるなどして該凸部と該凹部を嵌合せしめ、該第一の蓋体構成部材と該第二の蓋体構成部材の一端との嵌合を、各部材間の接触面に設けられた凹凸を介して確保し、外力により該第二の蓋体構成部材の本体を該第一の蓋体構成部材側に摺動することで、該第一の袋状部材を破壊してその内容物たる培地を出すことができるものであることを特徴とする上記〔48〕記載の菌検出器具、

〔57〕 図36ないし図40で示される構造の蓋体構成部材あるいはそれと実質的に同等の機能を有するものを備えたことを特徴とする上記〔56〕記載の菌検出器具、及び

〔58〕 図41ないし図44で示される構造の蓋体構成部材あるいはそれと実質的に同等の機能を有するものを備えたことを特徴とする上記〔56〕記載の菌検出器具が提供される。

本発明のより具体的な態様では、

〔59〕 (a) サルモネラ菌用培地の組成として、培地1,000mlあたり、実質的にトリプトン、適量、例えば、3～7g；酵母エキス、適量、例えば、1～6g；リジン、適量、例えば、5～15g；ブドウ糖、適量、例えば、0.5～2g；塩化ナトリウム、適量、例えば、7～9g；リン酸二水素一カリウム、適量、例えば、1.0～2.0g；チオ硫酸ナトリウム、適量、例えば、0.1～0.3g；クエン酸鉄アンモニウム、適量、例えば、0.2～0.4g；塩化マグネシウム、適量、例えば、15～25g；0.4%マラカイトグリーン液、適量、例えば、27～33ml及び；ブロムクレゾールパープル、適量、例えば、0.01～0.03g（培地のpHおよそ5.3～5.7）を含有するもの

(b) 腸炎ビブリオ用培地の組成として、培地1,000mlあたり、実質的に食塩ポリミキシンブロス、適量、例えば、25～40g（食塩ポリミキシンブロスは、酵母エキス、適量；ペプトン、適量；塩化ナトリウム、適量；ポリミキシンB、適量を含有する）；マンニット、適量、例えば、15～25g；クエン酸ナトリウム、適量、例えば、5～10g；チオ硫酸ナトリウム、適量、例えば、0.1～0.3g及び；ブロムクレゾールパープル、適量、例えば、0.01～0.03g（培地のpHおよそ7.0～7.4）を含有するもの

(c) 大腸菌群用培地の組成として、培地1,000mlあたり、実質的にラウリル硫酸ブロス、適量、例えば、26～43g（ラウリル硫酸ブロスは、トリプトース、適量；ラクトース、適量；リン酸二水素一カリウム、適量；リン酸一水素二カリウム、適量；塩化ナトリウム、適量；ラウリル硫酸ナトリウム、適量を含有する）；ラクトース、適量、例えば、3～8g及び；ブロムチモ

ールブルーあるいはブロムクレゾールパープル、適量、例えば、0.03～0.05 g（培地のpHおよそ6.75～7.25）を含有するもの、及び

(d) ブドウ球菌用培地の組成として、培地1,000 mlあたり、実質的にトリプトン、適量、例えば、5～15 g；酵母エキス、適量、例えば、2～8 g；マンニット、適量、例えば、5～15 g；リン酸一水素二カリウム、適量、例えば、2～8 g；塩化リチウム、適量、例えば、5～6 g；グリシン、適量、例えば、12～20 g；ピルビン酸ナトリウム、適量、例えば、10～14 g；1%亜テルル酸カリウム水溶液、適量、例えば、12～18 ml；フェノールレッド、適量、例えば、0.02～0.03 g（培地のpHおよそ7.25～7.75）を含有するものからなる群から選ばれた培地を使用していることを特徴とする上記〔1〕～〔58〕のいずれか一記載の菌検出器具、

〔60〕 実施例11に記載された改良培地からなる群から選ばれた培地を使用していることを特徴とする上記〔48〕～〔58〕のいずれか一記載の菌検出器具、及び

〔61〕 菌採取部による培養用試料採取後は、(a) 容器内への培地の供給、(b) 容器内の培地での菌の培養、(c) 菌の検出及び／又は検知、(d) 培養後の容器内培地の消毒及び／又は殺菌をすべて実質的に密閉した系内で実施することが可能で且つ携帯性があることを特徴とする上記〔1〕記載の菌検出器具が提供される。

本発明の別の態様では、

〔62〕 菌を培地で培養して培地の変化を観察することにより菌を検知するための器具であって、

- (i) 菌採取部、
- (ii) 培地、及び
- (iii) 消毒剤

を包含してなり、その(i) 菌採取部、及び(ii) 培地は少なくともその一部が菌の培養時に外力の作用により互いに一体的に接触するものであり、少なくとも前記(i) 菌採取部と前記(ii) 培地とが非接触的に収容容器に配置されて

おり、そして菌培養後は少なくとも培養された菌と (i i i) 消毒剤とが外力の作用により互いに一体的に接触するものであり、少なくとも前記 (i i i) 消毒剤と前記 (i i) 培地とは非接触的に収容容器に配置されていることを特徴とする上記〔1〕～〔5〕のいずれか一記載の菌検出器具、

〔6 3〕 該容器が封止用蓋体を有するものであり、該蓋体内に前記培地が袋状部材に内包されて配置されていることを特徴とする上記〔1〕～〔6 2〕のいずれか一記載の菌検出器具、

〔6 4〕 該容器が封止用蓋体を有するものであり、該蓋体内に前記消毒剤が袋状部材に内包されて配置されていることを特徴とする上記〔1〕～〔6 3〕のいずれか一記載の菌検出器具、

〔6 5〕 該蓋体が、少なくとも

(a) 培地を内包する第一の袋状部材と

(b) 消毒剤を内包する第二の袋状部材と

を互いに独立して保持することを可能にする構造を有するものであることを特徴とする上記〔1〕～〔6 4〕のいずれか一記載の菌検出器具、

〔6 6〕 該蓋体が、少なくとも

(a) 第一の袋状部材を保持する第一の蓋体構成部材と

(b) 第二の袋状部材を保持する第二の蓋体構成部材と

を有するものであることを特徴とする上記〔1〕～〔6 5〕のいずれか一記載の菌検出器具、

〔6 7〕 使用前、第二の蓋体構成部材が移動して第一の袋状部材を破壊することがないように、第一の蓋体構成部材と第二の蓋体構成部材とが、保護係合手段を有することを特徴とする上記〔1〕～〔6 6〕のいずれか一記載の菌検出器具、

〔6 8〕 第二の蓋体構成部材に、キャップ部材を備え、使用前、該キャップ部材が移動して第二の袋状部材を破壊することがないように、該キャップ部材と第二の蓋体構成部材とが、保護係合手段を有することを特徴とする上記〔1〕～〔6 7〕のいずれか一記載の菌検出器具、

〔6 9〕 保護係合手段が、ストッパー (1005、1008) とガイド (1

004、1007) からなるものであることを特徴とする上記〔67〕〔68〕の記載の菌検出器具、

〔70〕 図70で示されているような、形状a、形状b、形状c及び形状dからなる群から選ばれた形状のガイドであることを特徴とする上記〔67〕～〔69〕のいずれか一記載の菌検出器具、

〔71〕 図53ないし図64のいずれかで示される構造あるいはそれと培養された菌の殺菌処理に関して実質的に同等の機能を有するものであることを特徴とする菌検出器具、

〔72〕 上記〔1〕～〔58〕及び上記〔60〕～〔70〕のいずれか一記載の菌検出器具を用いて、検体中の生菌数を定量測定する方法、

〔73〕 該処理が、測定すべき菌を上記〔1〕～〔58〕及び上記〔60〕～〔70〕のいずれか一記載の菌検出器具に採取の後は封止された系中で行われるものであることを特徴とする上記〔72〕記載の方法、及び

〔74〕 目的が培養前の生菌数であることを特徴とする上記〔72〕又は〔73〕記載の方法が提供される。

本発明の上記した目的及びその他の目的、特徴、そして利点は、添付した図面と一緒に次の発明を実施するための最良の形態の項の詳しい記載をみれば明らかである。

図面の簡単な説明

図1は、本発明の菌検出器具の一態様を示す模式側面断面図である。

図2は、図1の菌検出器具の使用法の一例を示す模式図である。

図3は、図1の菌検出器具の使用法の一例を示す模式図である。

図4は、本発明の菌検出器具の他の態様を示す模式側面断面図である。

図5は、本発明の菌検出器具の他の態様を示す模式側面断面図である。

図6は、本発明の菌検出器具の他の態様を示す図である。主に器具の断面形状を説明する。

図7は、図6で示された器具の主としてその外観形状を示す図である。

図8は、図6で示された器具の菌培養のための空間を提供する容器部分の外

観形状を示す図である。

図9は、図6で示された器具の菌培養のための空間を提供する容器部分の断面構造を示す図である。(a)は上方より見た形状を表し、(b)は側面より見た形状を表す。

図10は、図6で示された器具の蓋体部分の外観形状を示す図である。(a)は下方より見た形状を表し、(b)は側面より見た形状を表し、(c)は上方より見た形状を表す。

図11は、図6で示された器具の蓋体部分の断面構造を示す図である。

図12は、本発明の菌検出器具の他の態様を示す図である。外観形状を説明する。

図13は、本発明の菌検出器具の他の態様を示す図である。図12の器具の断面形状を説明する。

図14は、本発明の菌検出器具の他の態様を示す図である。(a)はリング77を表し、(b)は容器と蓋体からなる菌検出器具の側面より見た形状を表し、(c)は73、74のある蓋体部分の断面形状を表すものである。

図15は、本発明の菌検出器具の他の態様を示す図である。(a)は上方より見た形状を表し、(b)は側面より見た形状を表すものである。

図16は、本発明の菌検出器具の他の態様を示す図である。(a)は蓋体構成部材112に対応する部分の断面形状を表し、(b)は蓋体構成部材102に対応する部分の断面形状を表し、(c)は菌検出器具の側面より見た形状を表すものである。

図17は、本発明の菌検出器具の他の態様を示す図である。外観形状を表す図である。

図18は、図17で示された器具の断面形状を表す図である。

図19は、図17で示された器具を構成するキャップ部材(561)の外観形状を表す図である。

図20は、図19で示されたキャップ部材(561)の断面形状を表す図である。

図21は、図20で示された断面図のI-I'切断面の形状を示す図である。

図22は、図17で示された器具を構成する蓋体構成部材(247)の外観形状を表す図である。

図23は、図22で示された蓋体構成部材(247)の断面形状を表す図である。

図24は、図22で示された蓋体構成部材(247)をII方向から見た外観を表す図である。

図25は、図22で示された蓋体構成部材(247)をIII方向から見た外観を表す図である。

図26は、図17で示された器具を構成する蓋体構成部材(243)の外観形状を表す図である。

図27は、図26で示された蓋体構成部材(243)の断面形状を表す図である。

図28は、図26で示された蓋体構成部材(243)をIV方向から見た外観を表す図である。

図29は、図26で示された蓋体構成部材(243)をV方向から見た外観を表す図である。

図30は、図17で示された器具を構成する容器(241)の外観形状を表す図である。

図31は、図30で示された容器(241)の断面形状を表す図である。

図32は、図30で示された容器(241)をVI方向から見た外観を表す図である。

図33は、図31で示された断面図のG-G'切断面の形状を示す図で、その中心部には菌採取部(246b)の断面が示されている。

図34は、本発明の菌検出器具を構成する部材の組立を模式的に示す図である。

図35は、本発明の菌検出器具の一つの態様を示す図である。断面形状を表す図である。

図36は、図35で示された蓋体構成部材(747)の外観形状を表す図である。

図37は、図36で示された蓋体構成部材(747)のM-M'線の断面形態を表す図である。

図38は、図36で示された蓋体構成部材(747)のVII方向からみた外観形態を表す図である。

図39は、図36で示された蓋体構成部材(747)のVIII方向からみた外観形態を表す図である。

図40は、図36で示された蓋体構成部材(747)の断面形状を表す図である。

図41は、図35で示された蓋体構成部材(743)の外観形状を表す図である。

図42は、図41で示された蓋体構成部材(743)のIX方向からみた外観形態を表す図である。

図43は、図41で示された蓋体構成部材(743)のX方向からみた外観形態を表す図である。

図44は、図41で示された蓋体構成部材(743)の断面形状を表す図である。

図45は、図44で示された蓋体構成部材(743)のN-N'線の断面形態を表す図である。

図46は、図44で示された蓋体構成部材(743)のP-P'線の断面形態を表す図である。

図47は、図44で示された蓋体構成部材(743)のQ-Q'線の断面形態を表す図である。

図48は、図41で示された蓋体構成部材(743)であって、透明な(あるいは半透明な)材質で形成された蓋体構成部材(743)の斜視外観図である。

図49は、図35で示された蓋体構成部材(743)と蓋体構成部材(747)との関係を、そこに設けられた凸状の小さな畝781と凹状の浅い溝777とを示して示した概念図である。培養開始前の状態を示す。

図50は、図35で示された蓋体構成部材(743)と蓋体構成部材(74

7) との関係、そこに設けられた凸状の小さな畝 781 と凹状の浅い溝 777 とを示して示した概念図である。培養開始する時の動作を説明して示す。

図 51 は、図 35 で示された蓋体構成部材 (743) と蓋体構成部材 (747) との関係、そこに設けられた凸状の小さな畝 781 と凹状の浅い溝 777 とを示して示した概念図である。アンプル 744 を破壊する位置まで蓋体構成部材 (747) を押し込んだ状態を示す。

図 52 は、蓋体構成部材 (例えば、743) のうちの容器との係合部の構造を、一部断面として表した図である。

図 53 は、本発明の菌検出器具の一つの具体例の斜視図である。

図 54 は、図 53 の菌検出器具の部材 1245 (及び 1561) と部材 1243 の組立てを斜視図として示してある。

図 55 は、本発明の菌検出器具の一つの具体例の斜視図である。

図 56 は、図 55 の菌検出器具の部材 1245 (及び 1561) と部材 1243 の組立てを斜視図として示してある。

図 57 は、本発明の菌検出器具の一つの具体例の斜視図である。

図 58 は、図 57 の菌検出器具の部材 1561 と部材 1245 の組立てを斜視図として示してある。

図 59 は、本発明の菌検出器具の一つの具体例の斜視図である。

図 60 は、図 59 の菌検出器具の部材 1561 と部材 1245 の組立てを斜視図として示してある。

図 61 は、本発明の菌検出器具の一つの具体例の斜視図である。

図 62 は、図 61 の菌検出器具の部材 1561、部材 1245、そして部材 1243 との組立てを斜視図として示してある。

図 63 は、本発明の菌検出器具の一つの具体例の斜視図である。

図 64 は、図 63 の菌検出器具の部材 1561、部材 1245、そして部材 1243 との組立てを斜視図として示してある。

図 65 は、本発明の菌検出器具の一つの具体例における部材 1561、1245 の側面図である (A : 前面図、B : 横からの図)。

図 66 は、本発明の菌検出器具の一つの具体例における部材 1561、12

45の側面図である。

図67は、図65で描かれたような部材1245と係合することのできる部材1243の概略図である。

図68は、本発明の菌検出器具の一つの具体例におけるガイド部1004とストッパー1005との関係を説明するための概略図である。

図69は、本発明の菌検出器具の一つの具体例におけるガイド部1004とストッパー1005とのサイトBの所での係合状態を拡大して概略的に示す。

図70は、本発明の菌検出器具の一つの具体例における保護係合手段のためのガイド部1004、1007の各種の形状を示す。

図71は、本発明の菌検出器具の一つの具体例を用いて菌の培養を行った場合の黄色ブドウ球菌の生菌数と測定濁度との関係を示すグラフである。

図72は、本発明の菌検出器具の一つの具体例を用いて菌の培養を行った場合の大腸菌の生菌数と測定濁度との関係を示すグラフである。

符号の説明

1, 21, 41, 61, 81, 101, 241, 741…容器本体、
2, 22, 42, 62, 82, 102, 242…蓋体、3…培地、
4, 24, 44, 64 (又は68), 84, 104, 244, 744…第一の袋状部材、6, 26, 46, 66, 86, 106, 246, 746…菌採取部、
6a, 26a, 46a, 66a, 86a, 106a, 246a, 746a…棒状部材、5, 296…第一の仕切り部材、15, 235…第二の仕切り部材、
6b, 26b, 46b, 66b, 86b, 106b, 246b, 746b…菌採取端、7…抗生物質含浸ディスク部材、9…消毒・殺菌剤、20…ガイド部材
11, 59, 79, 89, 109, 259, 776…容器と蓋体の係合部、
8, 28, 48, 68 (又は64), 88, 108, 248, 748…第二の袋状部材。

発明を実施するための最良の形態

本発明は、特に携帯型であって、容易に持ち運ぶことができ、更に菌を採取した場所で直ぐさま採取した菌の培養を開始することが可能であり、及び／又は熟練を必要とすること無く採取した菌の培養を開始することが可能である菌検出器具に関する。本発明の菌検出器具は、比較的小型であり、携帯性があり、採取した菌の培養開始後はその使用した器具の廃棄処理までをその培養菌に関して実質的に密閉した系で実施することができる機能を有するものをすべて包含するものと理解できる。ここで実質的に密閉した系とは、菌を培養したり、検知あるいは検出したり、さらには培養した菌を廃棄可能なように消毒又は／及び殺菌したりすることはできるが、培養している病原性菌が外界あるいは環境にその培養期間を通して拡散したりして出ることがない、及び／又は培養した病原性菌がその消毒又は／及び殺菌処理を完了するまでの間外界あるいは環境に拡散したりして出ることがないことを意味するか、あるいは外界又は環境を汚染することがないことを意味するか、さらにはそうした機能を達成できることを意味する。

上記した本発明の菌検出器具においては、非使用時には、菌の培養に適した培養条件を与えるべき培地および菌採取部が互いに非接触に設けられている一方、菌の検出のための培養時には、これらの特定の培地および菌採取部が互いに接触させられて、菌の繁殖に適した状態を与えるし、器具の使用後は安全に消毒及び／又は殺菌処理をすることができるようになっている。

本発明においては、該培地は更に、特定種の菌（食中毒菌、例えば、黄色ブドウ球菌）の繁殖に適した状態とされ、且つ、他の菌（黄色ブドウ球菌以外の、例えば、サルモネラ菌、大腸菌、腸炎ビブリオ菌、その他の腸内細菌など）は実質的に繁殖しない状態とされているが、検出処理後は簡単な操作で器具廃棄のための処理ができ、何時でも安全に処分することを可能にしている。

したがって、適当な菌培養手段（例えば、簡易なインキュベータ）および菌繁殖検出手段（例えば、菌繁殖に基づくpH変化を検出するpH指示薬）の利用により、特定種の菌（例えば、食中毒菌）の検出が容易となると共に、誰でも安心して簡単に使用済み器具の廃棄ができる。特定種の菌（例えば、黄色ブドウ球菌

などの食中毒菌) に対して選択性を有する培養条件を与える態様の検出器具を用いた場合には、その特定種の菌(例えば、食中毒菌)を選択的に検出・同定(食中毒菌の種類の識別)することが容易となるし、安心して病原性の菌を含む器具を消毒・殺菌処理できる。

病原性菌としては、例えば、黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*)、腸炎ビブリオ (*Vibrio parahaemolyticus*)、およびサルモネラ菌 (*Salmonella*)、例えばチフス菌 (*Salmonella typhi*)、パラチフスA菌 (*Salmonella paratyphi A*)、パラチフスB菌 (*Salmonella schottmuelleri*)、腸炎菌 (*Salmonella enteritidis*)、トンプソン菌 (*Salmonella thompson*)、ナラシノ菌 (*Salmonella narashino*)、ポツダム菌 (*Salmonella potsdam*)、オラニエンブルグ菌 (*Salmonella oranienburg*)、セテンベルグ菌 (*Salmonella senftenberg*) など、ボツリヌス菌 (*Clostridium botulinum*)、赤痢菌 (*Shigella*)、例えば志賀赤痢菌 (*Shigella dysenteriae*)、フレキシナー赤痢菌 (*Shigella flexneri*) など、コレラ菌 (*Vibrio cholerae*)、エルトール型コレラ菌 (*Vibrio cholerae* biotype eltor)、大腸菌 (*Escherichia coli*)、例えば病原性大腸菌 (enteropathogenic *Escherichia coli*)、代表的には *E. coli* O-157などが挙げられる。

好ましくは食中毒検出器具として使用する場合、本発明において菌培養時の「選択性」は、食中毒の原因となる菌の殆ど全て(99%程度)を占める「黄色ブドウ球菌、腸炎ビブリオ、およびサルモネラ菌」からなる群から選ばれる少なくとも1種以上の菌に対する培養選択性を有するようにすることができるが、これら3種類の菌相互間の識別は、必須としなくてもよい。すなわち、3種類の菌の少なくとも1種類の存在が確認された場合には、後述するような所定の消毒手段を環境に採用することにより、これら3種類の菌の全てを、それらが検出された問題の環境から実質的に除去することも可能だからである。上述したように(例えば、自発的に)食中毒菌の検出・同定ができた場合には、該食中毒菌の除去に適した手段(例えば、調理器具等を、商品名「ヒビデン」(商品名:住友製薬(株))(0.2~0.5%クロロヘキシジン溶液)あるいは逆性セッケンにより清拭した後、水洗する消毒方法)を採用することによって、容易且つ効果的に食

中毒を予防することが可能となる。

一方、対策の都合上食中毒の原因となる菌として、黄色ブドウ球菌、腸炎ビブリオ、サルモネラ菌、あるいは病原性大腸菌O-157などを相互に区別して識別検出したい場合には、使用する菌検出器具に培養選択性を付与したり、検出機能のうちに選択的な検出能を付与しておくこともできる。

本発明の菌検出器具は、必要に応じて、「3大」食中毒菌（細菌性食中毒の約99%が、これらのいずれかが原因とされる）である黄色ブドウ球菌、腸炎ビブリオ、およびサルモネラ菌に対する培養の選択性を与えるように構成される。更に最近とみに問題となってきた大腸菌O157:H7などの腸管出血性大腸菌に対する培養の選択性を与えるようにして構成されることもできる。またMRSAなどの抗生物質耐性菌に対する培養の選択性を与えるようにして構成されることもできる。

以下、必要に応じて図面を参照しつつ、本発明を詳細に説明する。

図1及び図3～16に本発明の菌検出器具の好ましい一実施態様の外観図並びに側面断面図などを示す。

先ず図1を参照して説明するに、この態様における検出器具は、上端部に開口を有する中空円筒状の容器1と、該開口に着脱自在に嵌入することが可能な蓋体2とから構成される。該蓋体2の上部（蓋体2の容器開口の反対側）には、その内部に特定の菌（例えば、黄色ブドウ球菌）の培養に適した培地3を内包する第一の袋状部材4が配置されている。その上方には、培養された菌を消毒したり、及び／又は殺菌するに十分な濃度あるいは量の消毒剤9を内包する第二の袋状部材8が配置されている。該培地3には、更に、菌繁殖に基づくpH変化を検出するpH指示薬（例えば、フェノール・レッド、ブロムクレゾールパープル、ブロムチモールブルーなど）を含有させておく。一方、該第一の袋状部材4の下側（容器の開口側）には、1個以上（好ましくは、複数）の穴を有する仕切り部材5が配置され、第一の袋状部材4が容器の開口側へ落下するのを防止している。また該第二の袋状部材8の下側（第一の袋状部材側）には、1個以上（好ましくは、複数）の穴を有する仕切り部材15が配置され、第二の袋状部材8が下側へ落

下するのを防止している。こうした第一の袋状部材4や第二の袋状部材8の下方への移動を制限するためには、仕切り部材5、15でなくとも代わりに同等の機能を持つ構造であればよく、例えば、蓋体2を構成する部材であって、貫通した仕切り部を構成しているものであってもよい。

更に、蓋体2の底面側のほぼ中央部には、前記容器の開口面に対してほぼ垂直に延びる菌採取部6が設けられている。該菌採取部6は、蓋体2に近い側に設けられる棒状部材6aと、該棒状部材の先端（蓋体2から遠い側）に配置された菌採取端6bとからなる。該菌採取端6bは一般的には培地とはその使用前に接触しない状態で収容されている。さらに該菌採取端6bは、選択的な培養を達成するためのものであって、特定の菌が繁殖するのを抑制する機能を有する抗生物質とは、一般的にはその使用前には接触しない状態で収容されているが、下記で詳しく説明するように必要に応じて、該抗生物質とは若干の接触がある状態であることもできるし、あるいは該菌採取端に該抗生物質が付与されていることもできる。

該抗生物質としては、特定の検知対象菌（例えば、病原性大腸菌、サルモネラ菌などの食中毒菌、MRSAなどの耐性菌など）以外の菌の繁殖を効果的に抑制する特性を有する抗生物質が挙げられ、例えば、食中毒の原因となる菌（黄色ブドウ球菌、腸炎ビブリオ、およびサルモネラ菌）を検知対象菌とした場合、例えば、アズトレオナム（Aztreonam）、ポリミキシンB、フルコナゾールなど、あるいはそれらの組合せが挙げられる。また例えば、抗生物質耐性菌を検知対象菌とした場合、耐性を持たないグラム陽性菌を抑制するオキサシリン、グラム陰性菌を抑制するアズトレオナム、ポリミキシンBなど、あるいはそれらの組合せが挙げられる。

抗生物質は、下記で説明するように培地の中に予め添加されていてもよいし、容器1の培養に使用される部分（例えば、容器1の底の部分やその近傍の器壁）にコーティングされていてもよいし、容易に溶解しうるようにされた粉末などとして存在することも許されるし、あるいは菌採取部の一部（例えば、菌採取端6bの直ぐ上の部分）の所にコーティングなどされていることもできる。該抗生物質は、上記した容器のうちの培養に使用する部分、培地3、ないしは菌採取部

6とは、別個に配置することも可能である。このように別個に抗生物質を配置する態様では、例えば、該抗生物質を付与したディスク状部材7（図5参照；好ましくは「多孔質体」からなる）を、必要に応じて容器1の内部（例えば、菌採取端6bと容器の底との間の空間部）に配置してもよい。あるいは抗生物質は下記第一の袋状部材4に内包された培地3を容器内部に落下させる時に供給される形態で配置されるものであることもできる。こうした態様では、例えば仕切り部材5のところ、あるいはガイド部材20（図4参照）の上側のところなどに抗生物質は配置されることもできる。

図1で示されるような態様の菌検出器具を用いる場合、先ず図2（a）に示すように、菌採取部6を有する蓋体2を、容器から取り出す。次いで、図2（b）に示すように、菌採取部6の先端の菌採取端6bを検査対象（例えば、まな板など）10に擦り付けて、該検査対象10に存在する菌を該菌採取端6bに採取する。次に菌採取部6を有する蓋体2を、再び容器に挿入した後、図3に示すように、第一の袋状部材4を（例えば、図示しない圧迫器具などを用いて、蓋体2の外側から強く圧迫することなどにより）破壊して、該第一の袋状部材4に内包されて収容されていた培地3を仕切り部材5の穴を通して容器内部に落下させる。これにより、菌採取部6の菌採取端6bは該培地3中に浸漬される。この際、第一の袋状部材4の破片等の培地以外の材料は、仕切り部材5によりその落下を阻止されて、容器の内部には落下しない。

例えば、上記したように、菌採取端6bには特定の選択性を有する抗生物質が付与されていると、そのため菌採取部6の菌採取端6bがこのように培地3中に浸漬された状態では、特定の菌（例えば、黄色ブドウ球菌、ボツリヌス菌などの食中毒菌）以外の菌の繁殖は実質的に抑制される。したがって、このような状態の菌検出器具を、適当な菌培養手段（例えば、簡易なインキュベータ）による培養に供した際には、特定の菌（例えば、黄色ブドウ球菌、ボツリヌス菌などの食中毒菌）が選択的に繁殖することとなる。この際の培養条件は特に制限されないが、通常、37℃、16～24時間程度の条件で充分である。上記した培養操作後に、培地3中に含有されたpH指示薬の変化の有無（更には、該変色の程度）

に基づき、容易に、特定の食中毒菌（例えば、黄色ブドウ球菌）を検出・同定（食中毒菌の種類の識別）することができる。例えば、pH指示薬としてフェノール・レッドを含有する培地は、培養初期はpH 7.4でピンク色を呈していたが、黄色ブドウ球菌が存在すると、黄色を呈して検出ができる。また培地の濁り、コロニーの成長、増殖した菌によって産生されたり分解されて得られた物質に基づいて顕れる物理科学的な性状変化を培地の変化として観察して菌の存在を判定することであってもよい。こうした目視観察の観点からは、容器1は少なくとも培養状況を観察する部位が透明などの透光性のあるものであることが好ましい。また結果の判定までは培地や抗生物質その他が光の影響を受けてその性状に変化を来す恐れがある場合は、当該透明部分は遮光用被覆を設けておき、それを容易に観察時に剥がすことができるように構成することもできる。

最後に菌を培養して検知を行った器具は、廃棄処理をすることになるが、そのためには培養した菌体、菌培養物、容器内側などを完全に消毒・殺菌処理しなければならない。図には示していないが、第二の袋状部材8を（例えば、図示しない圧迫器具、あるいは破碎機構などを用いて、蓋体2の外側から強く圧迫、あるいは破碎に十分な力を加えることにより）破壊して、該第二の袋状部材8に内包されて収容されていた消毒剤9を仕切り部材5、15の穴を通して容器内部に落下させる。これにより、菌採取部6の菌採取端6b、そして培養した菌を含有する培地3は該消毒剤9中に浸漬及び／又は混合される。この際、完全に消毒・殺菌処理するために容器1内部に消毒剤9が行き渡るように振り混ぜる等することが好ましいが、本発明では実質的に密閉した系で処理されていることから、安全且つ確実な消毒・殺菌処理を遂行できる。

次に、本発明の菌検出器具の各部の構成について説明する。

（容器）

容器は、透明ないしは半透明な材料から構成されることが好ましい。より具体的には、容器は、ガラス等の無機材料又はプラスチック（例えばポリエチレン、ポリプロピレン、ポリスチレン、ポリエチレンテレフタレート（PET）、ポリカーボネート、アクリル樹脂、ポリオレフィン樹脂）等の有機材料を用いて形成

することができるが、重量の点および遠心処理等の際の破損の可能性を考慮すれば、容器はプラスチックからなることが好ましい。

容器の形状は、上端部に開口を有し、且つ該開口に蓋体2の着脱自在な装着が可能である限り、特に限定されることはない。より具体的には、例えば、図示した試験管状の他に、フラスコ状、びん状等の容器形状のいずれであってもよい。

(蓋体)

蓋体2を構成する材料は特に限定されないが、容器を構成する材料と同じものから構成することができる。別の態様では、容器の破損の可能性を低くして、しかも該容器との密着性を高める点から、蓋体2は容器より軟らかい材料で構成されていることも好ましい場合がある。より具体的には、容器・蓋体共にポリプロピレン（PP）で構成できるし、容器がポリスチレン、PET等の硬質プラスチックないし硬質樹脂から構成されている場合、蓋体2はポリオレフィン等の軟質プラスチックないしは軟質樹脂（弾性体ないしエラストマーを包含する趣旨で用いる）から構成されていることができるし、好ましい場合もある。蓋体は容器の口部、又は壁部と係合するように配置された部分をもつ部材である。蓋体は容器にネジ式で留めるものであってもよいし、バヨネット式で留めるものであってもよい。さらに係合部の変形により所定の位置に固定されるものであってもよい。また蓋体と容器との係合部にはパッキンなどを置くことも可能である。蓋体を構成する部材は、その一部あるいは全部が識別のため着色されていてもよいし、文字、符号、絵などが印刷されていてもよい。好ましい具体例では、検出対象菌の種類などが容易に判別できるように、蓋体の頂部のキャップ部を検出対象菌毎に異なる色彩にしてあるものが挙げられるが、適宜任意に着色したり、文字、符号、絵などを書いて修飾しておくことが可能である。材質自体、色彩のあるものを使用することもできる。

本発明の器具において、好ましくは蓋体2は図1及び図4～7、10～16で示されているように少なくとも二つの袋状部材を収納しうるものであって、その第一の袋状部材には培地を収容し、その第二の袋状部材には消毒・殺菌剤を収容したものであることができる。

(袋状部材)

A. 培地

本発明においては、菌検出器具の保存・運搬時には第一の袋状部材4が培地3を安定・確実に内包可能で、且つ、菌培養時には培地3の所定量を確実に放出可能である限り、該第一の袋状部材4の材質、形状等は特に制限されない。

より具体的には、第一の袋状部材4の材質はガラス、硬質プラスチック等の硬質材料であってもよく、また、ポリエチレン、ポリプロピレン等の軟質プラスチック、紙等のフレキシブル材料等の軟質材料であってもよいが、内包する培地の存在、その色調等の確認が容易な点からは、透明ないし半透明の材料からなることが好ましい。

本発明においては、菌の培養時に、培地3が該培養に適した位置に配置されることができ、第一の袋状部材4から培地3を放出させる手段は特に制限されない。より具体的には例えば、第一の袋状部材4から培地3を放出させる際に、第一の袋状部材4の穴あけ、切込み、破壊等のいずれの手段をとることも可能である。第一の袋状部材4の穴あけ、切込み等を行う場合、針状部材、刃状部材（いずれも図示せず）等の穴あけ、切込み等を容易とする部材を、必要に応じて蓋体2の内壁に配置してもよい。他方、第一の袋状部材4の破壊により培地3を放出させる態様においては、該破壊を容易とする点からは、第一の袋状部材4は硬質材料（ガラス、硬質プラスチック等）からなることが好ましい。実質的に密閉した系を保ちつつ外力により十分な破壊力が該袋状部材にかかるような構造では、そうした硬質材料に容易に強いテンションをかけそして破碎することができ、その内容物を出すことができる。例えば、硬質材料からできた袋状部材の特定の部分（複数の部分でもよいが、好ましくはかなり狭い部分）に、強いテンションが集中するようにされた構造が好ましい。図6～図16を示して下記で詳しく説明するように、様々な構造により達成できることは理解されねばならないし、公知の構造、慣用されている構造を菌検出器具に応用して本発明の菌検出器具において備えることが求められる構成とすることも可能である。

B. 消毒・殺菌剤

本発明においては、その使用までの菌検出器具の保存・運搬をなす間並びに菌の培養時に、第二の袋状部材 8 によって消毒・殺菌剤 9 を安定・確実に内包して收容することができ、さらにその使用後の器具の廃棄処理時にはその消毒・殺菌剤 9 の所定量を確実に放出することができるものである限り、該第二の袋状部材 8 の材質、形状等は特に制限されない。より具体的には、該袋状部材の材質は前記第一の袋状部材で使用されるような材質のものの中から選択することができるが、收容している消毒・殺菌剤 9 を安定・確実に内包することができ、且つ、培養された菌を殺菌・消毒処理する時には確実にその消毒・殺菌剤の所定量が存在することを確認したりするためや、あるいは殺菌・消毒処理が確実になされたことを確認する観点からその色調等の確認を容易にできるようにするためには、透明ないし半透明の材料からなることが好ましい。

本発明においては、菌検出器具の廃棄処理時に、消毒・殺菌剤が該消毒・殺菌処理に適した位置に配置されうるものである限り、第二の袋状部材 8 から消毒・殺菌剤 9 を放出させる手段は特に制限されない。より具体的には例えば、第二の袋状部材 8 から消毒・殺菌剤 9 を放出させる際に、第二の袋状部材 8 の穴あけ、切込み、破壊等のいずれの手段をとることも可能である。第二の袋状部材 8 の穴あけ、切込み等を行う場合、針状部材、刃状部材（いずれも図示せず）等の穴あけ、切込み等を容易とする部材を、必要に応じて蓋体 2 の内壁に配置してもよい。他方、第二の袋状部材 8 の破壊により消毒・殺菌剤 9 を放出させる態様においては、該破壊を容易とする点からは、第二の袋状部材 8 は硬質材料（ガラス、硬質プラスチック等）からなることが好ましい。実質的に密閉した系を保ちつつ外力により十分な破壊力が該袋状部材にかかるような構造では、そうした硬質材料に容易に強いテンションをかけそして破砕することができ、その内容物を出すことができる。例えば、硬質材料からできた袋状部材の特定の部分、好ましくは複数の部分でもよいがかなり狭い部分に、強いテンションが集中するようにされた構造が好ましい。図 6～図 16 を示して下記で詳しく説明するように、様々な構造により達成できることは理解されねばならないし、公知の構造、慣用されている構造を菌検出器具に応用して本発明の菌検出器具において備えることが求めら

れる構成とすることも可能である。外力は回転運動、押し込み運動、ひねりなどを利用したものであることができる。

(棒状部材)

本発明において、菌採取部を構成する棒状部材 6 a は、直接に検出対象菌を採取する機能を有する菌採取端 6 b を、コンタミネーションを避けつつ安定に保持し、且つ、菌培養時には該菌採取端 6 b を培地 3 と接触させるのに好適な位置に保持する、いわば補助的な機能を有する部材である。このような安定保持および接触位置確保の機能が実質的に達成される限り、棒状部材 6 a の材質、長さ、形状等は特に制限されない。コンタミネーション防止および菌採取時の柔軟性の点からは、該棒状部材 6 a はフレキシブルなプラスチックからなることが好ましい。

(菌採取端)

本発明において、菌採取部を構成する菌採取端 6 b は、直接に菌を採取し、採取した後は収容容器内に他の汚染を受けること無く収容可能であり、且つ菌培養時には培地 3 と実質的に十分接触して該採取した菌の培養に好適な条件を提供する機能を有する部材である。このような採取機能および接触機能が実質的に達成される限り、その構造は限定されず如何なる構造である事もできるし、その菌採取端 6 b の材質、長さ、形状等は特に制限されない。より具体的には、例えば、該菌採取端 6 b は単なる棒状部材 6 a の先端部であることも可能であるが、上記した採取機能／接触機能を効果的に達成容易な点からは、該菌採取端 6 b は表面積が増大された面を有することが好ましい。このような「表面積が増大された面」としては、例えば、1 個以上の凹部（切込み、凹凸面等）が付与された表面（例えば、「耳かき」ないしスパチュラに類似した先端）、多孔質の表面等が挙げられる。菌採取端 6 b（少なくとも、その表面部分）を多孔質材料で構成する態様においては、キセロゲル状の多孔質体、あるいは繊維状体が好ましく用いられる。該繊維状体としては、例えば、濾紙（口紙）、綿（脱脂綿等）、パンチフェルト、織物、編物、不織布等が特に制限なく使用可能である。更に採取対象が液

状のものを採取し易いように、部分的にゴムやプラスチック製にしたり、あるいはエラスティック性や可撓性を有する材料を使用して中空構造のものやスポイト構造のものとしたり、さらには菌採取部を構成する棒状部材6aと一体となって吸引可能な構造としたものであってよい。特に好適なものとしては、綿棒のような形態のものが挙げられる。

菌を採取する対象（対象検体）としては、一般的には調理場の設備、調理器具などの調理環境、台所、トイレ、風呂、飲食品販売場所などが挙げられ、そうした対象検体を、例えば、上記したような綿棒（菌採取端6b）の先で拭ったり、そういった検体に浸すなどする。もちろん、こうした場合該綿棒は不必要な部分や場所に触れないように注意して該検体採取が一般的には行なわれるよう図られる。また、菌を採取する対象としては、食品や食材などを挙げることもできる。

（培地）

本発明においては、所望の検出対象菌（例えば、食中毒菌や耐性菌など）の培養が可能である限り、上記培地3の種類、組成等は特に制限されず、それらの菌に対する公知の培地あるいはその改良培地を使用できるし、さらにそれを適宜改変して使用しやすいようにしたものも使用できる。好ましくは食中毒菌の場合、後述する抗生物質、pH指示薬等との組合せの適合性（反応性、相溶性等）を考慮して、適宜選択することが可能である。

本発明においては、黄色ブドウ球菌用培地として、例えば、マンニット食塩（変法）培地、Baird-Parker培地、Tellurite-Glycine 培地、Phenylethanol-Azide 培地、チョコレート寒天培地、血液寒天培地、ハートインフュージョン寒天培地等が使用可能であるが、後述する黄色ブドウ球菌選択用の抗生物質との適合性の点からは、マンニット食塩（変法）培地を用いることが好ましい。

MRSAのような抗生物質耐性菌用培地としては上記培地にオキサシリン、アズトレオナム、ポリミキシンBを加えたものを好ましく用いることができる。

他方、腸炎ビブリオ用培地としては、例えば、食塩ポリミキシン（変法）培地、Cellobiose-Polymixin-Colistin 培地、Thiosulfate-Citrate-Bile Salts-Sucrose培地、TCBS寒天培地、マッコンキー寒天培地、血液寒天培地等が使用可

能であるが、後述する腸炎ビブリオ選択用の抗生物質との適合性の点からは、食塩ポリミキシン（変法）培地を用いることが好ましい。

更に、サルモネラ用培地としては、例えば、キシロース／リジン（変法）培地、Mannitol-Lysine-Crystal Violet-Brilliant培地、Salmonella-Shigella 培地、Deoxycholate-Citrate-Lactose-Sucrose培地、DHL寒天培地、マッコンキー寒天培地等が使用可能であるが、後述するサルモネラ選択用の抗生物質との適合性の点からは、キシロース／リジン（変法）培地を用いることが好ましい。

大腸菌用培地としては、BTB-ラクトース寒天培地、血液寒天培地、デオキシコレート培地、LB培地等が使用可能である。

こうした培地としては、公知の文献に記載のものあるいはそれを参考にして修飾・改変して得られたものの中から選ぶことも可能である。公知の文献としては、例えば、腸炎ビブリオ用培地としては特公平7-73509号公報、特開平1-296998号公報など、黄色ブドウ球菌用培地としては特開昭52-134082号公報、特開平6-217760号公報など、サルモネラ用培地としては特開平2-65798号公報、特開平5-130859号公報、特開平6-22791号公報などが挙げられる他、それらで引用されている文献が挙げられる。本発明では特に液体培地に適合するように必要に応じて修飾・改変して得られたものが好ましい。

培地は一般的には液体状態のものを好ましく使用できるし、アンプルあるいはカプセルなどの密封性のある容器内に充填したりして収容したものが好適に使用できるが、これに限定されず、例えば容易に外力により破壊することのできる仕切りなどを隔てて容器の培養空間に供給することが可能なようにされたものであることもできる。

また培地は寒天培地であってもよく、例えば容易に外力により破壊することのできる仕切りなどを隔てて抗生物質と接触しないように収容された形態とし、培養時その仕切りを硬い材質で構成された菌採取棒の先端部で突き破るとか、その仕切りの上に置かれたガラスあるいはプラスチックなどでコーティングされた鉄片などを外部マグネットを介してその仕切りに当てて破壊するとか、さらにはそれに加えて抗生物質液あるいは緩衝液などのカプセルを破壊して液を培地上に流

し込むなどして採取端の菌と抗生物質と寒天培地とが接触するようにされており、もよい。また寒天培地に代えて乾燥培地や粉末培地を収容しておいて、菌検出器具の容器内に様々な形態で収容された緩衝液などの水性液体で常用の寒天培地に復帰するような形態のものであることもできる。

食中毒菌の場合、(ゲル状培地等により)コロニー状に培養して菌を検出・識別することも可能ではあるが、一般の食堂ないし家庭等において食中毒菌の検出・識別を容易とする観点からは、pH指示薬や、菌により分解あるいは代謝されて生ずるその分解物や代謝物が菌の増殖を示す指標となるところの化学物質などを添加して、pH変化等による色変化とか、視覚により容易に判別が可能のように、均一性のある培養系を与える液状培地を用いることは好ましい。色変化等に基づく食中毒菌の検出・識別を実質的に妨げない限り、培地3は、好ましくはある程度の粘度を有していてもよい。

(添加剤)

上記した培地3中には、必要に応じて、種々の添加剤を加えることができる。検出対象菌の検出を、該菌の繁殖に基づくpHによって確認する本発明の態様においては、該培地中に予めpH指示薬を加えておくことが好ましい。このようなpH指示薬を用いた場合、細菌の繁殖により酸性物質(乳酸等)が産生されて培地のpHが変化し、これに基づいてpH指示薬の色調が変化するため、該繁殖の確認が容易となる。

本発明で利用可能なpH指示薬は特に制限されない。pH変化域、色調等の点からは、例えば、フェノール・レッド、クレゾール・レッド、ブロムチモール・ブルー、ブロムクレゾール・パープル、トリフェニル・テトラゾリウム、ブルー・テトラゾリウム等が好適に使用可能である。これらのpH指示薬は単独で、あるいは必要に応じて2種以上組合せて、用いることができる。更には、異なる菌種を検出するための培地に、(未変化時に)異なる色調を有するpH指示薬をそれぞれ用いておけば、これらの色調により一目で検出すべき菌種を認識することが容易となるため、好ましい。

(抗生物質)

本発明においては、上記した培地自体にある程度の菌選択性を付与することも可能であるが、一般的にはこの選択性を確実なものとする点からは、必要に応じて、それぞれ検出・確認すべき特定の検知対象菌以外の菌の繁殖を効果的に抑制する抗生物質を組合せて用いることが好ましい。抗生物質は、検知対象である菌の選択的な培養を達成するためのものであって、特定の検知対象の菌以外の菌が繁殖するのを抑制する機能を有する。使用する抗生物質の種類は、検知対象である菌との関係から選定することができるが、本発明の器具の使用時の状況に合わせ、如何なる菌選択性を付与するかを考慮して決定することもできる。

菌培養時の「選択性」は、目的に応じて調節したり、選択することが可能で、例えば食中毒菌を対象とした場合、食中毒の原因となる菌の殆ど全て（99%程度）を占める「黄色ブドウ球菌、腸炎ビブリオ、およびサルモネラ菌」からなる群から選ばれる1種以上の菌に対する培養選択性を有することが好ましいが、これら3種類の菌相互間の識別は必須ではない。しかしながら、これらの食中毒菌それぞれの特性に応じたキメ細かい対策を可能とする点からは、「黄色ブドウ球菌、腸炎ビブリオ、およびサルモネラ菌」相互間の識別が可能な「培養の選択性」を有することが好ましい場合もある。またO157のような病原性大腸菌を識別して検知できるような「培養の選択性」を有することが好ましい場合もある。

本発明においては、目的とする特定（1種またはそれ以上）の検出対象菌（例えば、食中毒菌など）以外の菌の繁殖を効果的に抑制できる抗生物質である限り、特に制限なく使用することが可能である。抗生物質は、一種類を単独で使用することもある場合には可能であるが、好ましくは複数を目的に応じて組み合わせで使用でき、さらにその使用量は特には使用する培地の量との関係から目的に応じて適量が決定されうる。例えば、食中毒菌を検知する場合、以下に示すような抗生物質が好ましく用いられる。下記において、各抗生物質とともに示した濃度は、食中毒菌培養時（培地と一体化した際）における好適な濃度である。

〈黄色ブドウ球菌選択性の抗生物質〉

アズトレオナム (Aztreonam)	1～15 μ g/ml
ポリミキシンB	1～15 μ g/ml
フルコナゾール	1～10 μ g/ml

上記3種類の抗生物質の組合せが好適に使用可能である。

〈腸炎ビブリオ選択性の抗生物質〉

ポリミキシンB	1～15 μ g/ml
フルコナゾール	1～10 μ g/ml
ポタシウム・テルライト (potassium tellurite)	1～20 μ g/ml

上記3種類の抗生物質の組合せが好適に使用可能である。

〈サルモネラ選択性の抗生物質〉

フルコナゾール	1～10 μ g/ml
---------	-----------------

(抗生物質の付与位置)

本発明においては、上記抗生物質が菌培養時に培地3と一体となって機能する限り、該抗生物質の付与位置は特に制限されない。好ましくは下記で詳しく説明するディスク部材7に保持させることができる(図5参照)が、それ以外の方法も可能である。すなわち、より具体的には、例えば抗生物質は培地3内に予め添加されていてもよく、また、容器の内壁にコーティングされていてもよく、あるいは菌採取部6の所定の位置(培養時に培地3と接触可能な菌採取部6の位置)に付与されていてもよい。これらの付与位置は、必要に応じて2以上組合せてもよい。これらの態様においては、前記したディスク状部材7が省略可能であることは、言うまでもない。抗生物質を培地3内に予め添加する場合には、該培地内における抗生物質の失活を考慮して、該失活(例えば、常温、1年保存で約30～35%程度の抗生物質の活性低下)をカバーできる程度の多めの抗生物質を加えておくことが好ましい。

容器内の培養に使用する空間に収容する場合、抗生物質は粉末状で収容することも可能であるが、培地などの液体と接触して容易に溶解などするようなカプセル剤、錠剤などとして収容したり、あるいは上記したように容器内の培養に使用する空間となるべき部位に抗生物質の溶液を添加した後、減圧乾燥等の方法で容器の内壁にコーティングして収容してあるものであってよい。また抗生物質はそれを粉末などの容易に溶解する形態のものあるいは溶液として、破壊可能なアンブルやカプセルなどに充填しておき、容器内の培養に使用する空間に容易に添加可能になるようにして収容されていることもできる。容器内のいずれの部位に収容されてあってもよく、培養前に容器を振るとか、液体培地で洗い流すとか、あるいは外力を加えてアンブルなどを破壊することなどにより、培地と接触可能になるようにして収容されていることができる。培養前には培地と非接触状態を保つような収容方法が好ましいものとして挙げられ、例えば、仕切り部材5のところ、あるいはガイド部材20の上側のところなどに抗生物質は配置される等できる。

一方、菌採取部6の所定の位置に抗生物質を付与する態様においては、該菌採取部6の棒状部6a（培養時に培地3と接触可能な位置）、および／又は菌採取部6先端の菌採取端6bに付与されていることが好ましい。抗生物質を菌採取端6bに付与する場合、該菌採取端6b自体に含浸されていてもよく、または、菌採取端6bを内層（棒状部材6a側）と、外層（菌採取用）との2以上の層からなる多層構成として、該内層部分に抗生物質と付与してもよい。また菌採取端6bの上側半分のところに抗生物質を含浸させたり、あるいはコーティングしておくようなこともできる。

（ディスク部材）

本発明において必要に応じて配置されるディスク部材7は、抗生物質を保持し、且つ、菌培養時には培地3と接触して特定種類の菌の培養に好適な条件を提供する機能を有する部材である（図5参照）。このような保持機能および接触機能が実質的に達成される限り、ディスク部材の材質、長さ、形状等は特に制限されない。より具体的には例えば、該ディスク部材は単なる板ないし平面状部材であ

ることも可能であるが、上記した保持機能／接触機能を効果的に達成容易な点からは、該ディスク部材は表面積が増大された面を有することが好ましい。このような「表面積が増大された面」としては、例えば、1個以上の凹部（切込み、凹凸面等）が付与された表面、多孔質の表面等が挙げられる。

ディスク部材（少なくとも、その表面部分）を多孔質材料で構成する態様においては、キセログエル状の多孔質体、あるいは繊維状体が好ましく用いられる。該繊維状体としては、例えば、濾紙（ロ紙）、綿（脱脂綿等）、パンチフェルト、織物、編物、不織布等が特に制限なく使用可能である。

抗生物質を保持せしめるディスク部材7を用いないで済むようにされ、且つ菌検出器具の操作性の向上が図られた培地であり、さらに液体培地に適したものとしては、例えば、

(a) サルモネラ菌用培地の組成（培地1，000mlあたり）：

トリプトン，適量、好ましくは3～7g、例えば、5g；酵母エキス，適量、好ましくは1～6g、例えば、3g；リジン，適量、好ましくは5～15g、例えば、10g；ブドウ糖，適量、好ましくは0.5～2g、例えば、1g；塩化ナトリウム，適量、好ましくは7～9g、例えば、8g；リン酸二水素一カリウム，適量、好ましくは1.0～2.0g、例えば、1.6g；チオ硫酸ナトリウム，適量、好ましくは0.1～0.3g、例えば、0.2g；クエン酸鉄アンモニウム，適量、好ましくは0.2～0.4g、例えば、0.3g；塩化マグネシウム，適量、好ましくは15～25g、例えば、20.3g；0.4%マラカイトグリーン液，適量、好ましくは27～33ml、例えば、30ml及び；ブロムクレゾールパープル，適量、好ましくは0.01～0.03g、例えば、0.02g（培地のpHおよそ5.3～5.7）

(b) 腸炎ビブリオ用培地の組成（培地1，000mlあたり）：

食塩ポリミキシンブロス，適量、例えば、25～40g（食塩ポリミキシンブロスは、酵母エキス，適量；ペプトン，適量；塩化ナトリウム，適量；及びポリミキシンB，適量を含有する）；マンニット，適量、好ましくは15～25g、例えば、20g；クエン酸ナトリウム，適量、好ましくは5～10g、例えば、

、8 g ; チオ硫酸ナトリウム、適量、好ましくは0.1~0.3 g、例えば、0.2 g 及び ; ブロムクレゾールパープル、適量、好ましくは0.01~0.03 g、例えば、0.02 g (培地のpHおよそ7.0~7.4)

(c) 大腸菌群用培地の組成 (培地1, 000 mlあたり) :

ラウリル硫酸プロス、適量、好ましくは26~43 g、例えば、35.6 g (ラウリル硫酸プロスは、トリプトス、適量 ; ラクトース、適量 ; リン酸二水素一カリウム、適量 ; リン酸一水素二カリウム、適量 ; 塩化ナトリウム、適量 ; ラウリル硫酸ナトリウム、適量を含有する) ; ラクトース、適量、好ましくは3~8 g、例えば、5 g 及び ; ブロムチモールブルーあるいはブロムクレゾールパープル、適量、好ましくは0.03~0.05 g、例えば、0.04 g (培地のpHおよそ6.75~7.25)

(d) ブドウ球菌用培地の組成 (培地1, 000 mlあたり) :

トリプトン、適量、好ましくは5~15 g、例えば、10 g ; 酵母エキス、適量、好ましくは2~8 g、例えば、5 g ; マンニット、適量、好ましくは5~15 g、例えば、10 g ; リン酸一水素二カリウム、適量、好ましくは2~8 g、例えば、5 g ; 塩化リチウム、適量、好ましくは5~6 g、例えば、5.5 g ; グリシン、適量、好ましくは12~20 g、例えば、16.5 g ; ピルビン酸ナトリウム、適量、好ましくは10~14 g、例えば、12 g ; 1%亜テルル酸カリウム水溶液、適量、好ましくは12~18 ml、例えば、15 ml ; フェノールレッド、適量、好ましくは0.02~0.03 g、例えば、0.025 g (培地のpHおよそ7.25~7.75) が挙げられる。これらの培地成分のうち、栄養源として加えられている成分、例えば、トリプトン、酵母エキス、リジン、ブドウ糖、ペプトン、マンニット、トリプトース、ラクトース等は、当該分野の当業者が適宜目的・必要に応じて広い範囲でその量を増減でき、こうした培地も本発明の培地の範囲内のものと理解すべきである。また、検出すべき菌の選択性に関係する成分としては、塩化ナトリウム、マラカイトグリーン、ブロムクレゾールパープル、チオ硫酸ナトリウム、クエン酸鉄アンモニウム、ポリミキシンB、ラウリル硫酸ナトリウム、ブロムチモールブルー、塩化リチウム、ピルビン酸ナトリウム、亜テルル酸カリウム、フェノールレッド等が挙げられ、こうした成

分は菌の検出感度に少なからぬ影響を有する成分であることから比較的その添加の量を正確に選択することが求められるが、当該分野で知られた菌を培養しての通常の検定などを行い、実験によりその量を選択並びに決定して、上記以外の範囲から選択することは許されるものであり、こうした改変・改良をされた培地も本発明の培地の範囲内のものと理解すべきである。これらの培地は流動性がある液体培地で、本発明の菌検出器具での利用に特に適した形態の培地である。これらの培地は優れた菌検出感度、さらには菌に対する特異性を示し、同時にpH指示薬の色の変化による菌の検出性能も優れている。上記組成を構成する成分の量は、適宜当業者であれば増減することができるし、さらに適当な成分を付加することも、その基本的な性状を変えないかぎり可能である。培地への配合成分は、市販のものを使用することができ、例えば、食塩ポリミキシンプロスは日水製薬（株）などから市販されているもの、ラウリル硫酸プロスはDifco 社などから市販されているものを使用することができ、その他の成分はDifco 社、和光純薬工業（株）などから入手できる。

本発明の菌検出器具は、調理場の設備、調理器具などの調理環境、台所、トイレ、風呂、飲食品販売場所などを含めたヒトの生活環境における、特定種の菌（食中毒菌、例えば、黄色ブドウ球菌、サルモネラ菌、大腸菌、腸炎ビブリオ菌、その他の腸内細菌など）を検出するのに有用であるが、さらに本発明の菌検出器具を使用して、さまざまな成分を高濃度で含んでいる食品、食材における当該菌、例えば、食中毒菌などによる汚染を検出する目的で利用することも可能である。食品、食材などには、種々の成分、例えば、糖類、蛋白、脂質、有機酸（例えば、酢酸、クエン酸など）、アミノ酸、化学調味料、ビタミン、ミネラル、化学物質などが含まれており、それにより培地のpH、イオン強度などが変化し、検出の原理に菌の増殖による培地pHの変化をpH指示薬の色の変化を利用して検出を行なっている場合、使用しているpH指示薬に影響を及ぼす可能性がある。こうした場合、検出対象食品・食材などの種類に応じて、検体を前処理（例えば、pH調整）したり、適切なpH指示薬を選択したり、さらには培地の成分を適宜変更したり、あるいはその配合量を変えるなどして、適切なものにすることができる。例えば、検査対象食品が、乳製品の一種であるような飲料などで大腸菌

などの検出を目的としている場合、例えば、pH指示薬であるブロムチモールブルーをブロムクレゾールパープルに置き代えて使用するなどが挙げられる。

(無菌状態)

上述したような本発明の菌検出器具は、検査の正確性の点からは、使用直前までは（少なくともその内部は）実質的に無菌状態であることが好ましい。本発明の器具を製造後に、無菌状態にする際には、公知の物理的手段（例えば、紫外線、 γ 線等の電磁波照射による滅菌）、および／又は化学的手段（例えば、エチレンオキサイド等のガスによる滅菌）が特に制限なく使用可能である。例えば、器具に1～30℃で、 γ 線を1分間照射することにより滅菌することができる。また、エチレンオキサイドを用いた滅菌装置を使用して滅菌する場合、該滅菌は、例えば、0℃～70℃の温度、好ましくは30℃～50℃の温度で、約10～40%のエチレンオキサイドと約60～90%の炭酸ガスからなる気体中、好ましくは約20%のエチレンオキサイドと約80%の炭酸ガスからなる気体中で、加圧下、好ましくは約0.1～1kgw/m²の圧力、より好ましくは約0.3kgw/m²の圧力の下で、約1～48時間、好ましくは約3～10時間行なうことにより達成できる。

上記滅菌後、本発明の菌検出器具は、フィルム等からなる袋（図示せず）内に保存しておくことが好ましい。この際、菌検出器具（図1）を一体的に袋内に保存しておいてもよく、また、必要に応じて、容器と、蓋体2（+菌採取部6）とを、それぞれ別個の袋に保存しておいてもよい。

上述の菌採取端、及び抗生物質に関連した種々の収容形態、並びに培地に関連した種々の収容形態などの選定、組み合わせについては、本発明の目的や趣旨を逸脱しないかぎり様々な数多くのバリエーション及び組み合わせが許容される。特に抗生物質及び培地（好ましくは特に液体培地）の双方ともが、あるいはその少なくとも一方を合成樹脂やガラス製の袋、アンプル、又はカプセルなどに収容し、これらを使用時に破壊してその抗生物質及び培地を一体化させる形態のものの場合、その袋、アンプル、又はカプセルなどを収容している容器の部分、割り器具を使用したり、あるいはそのようなものを使用しないで、外力によりそうし

た袋、アンプル、又はカプセルなどを容易に破ったり、破壊できるような材質・形態のものが好ましく、例えばフレキシブルなものとか、エラスティック性や可撓性を有するものが挙げられる。

(消毒・殺菌剤)

本発明の使用済みの菌検出器具の培地等にある培養された病原菌を消毒及び／又は殺菌して、該使用済みの菌検出器具を安全に廃棄できるようにするため使用される消毒・殺菌剤は、検体である菌の培養を開始してからは実質的に外界あるいは環境と隔離された形態で、培養微生物を含んでいる部分を消毒及び／又は殺菌できるように添加されるものであり、そうした構造であればいかなる形態で本発明の菌検出器具に配置されていてもよいが、代表的には蓋体2のうちに培地3を収容する第一の袋状部材とは別の第二の袋状部材8に収容された形態で存在するものが挙げられる。消毒・殺菌剤としては、当該分野で知られた消毒及び／又は殺菌剤の中から適宜選択して用いることができるが、例えば塩素酸塩系消毒・殺菌剤、逆性石ケン類消毒・殺菌剤、ピグアニド系消毒・殺菌剤、アルデヒド系消毒・殺菌剤、フェノールあるいはクレゾール系消毒・殺菌剤などが挙げられる。代表的な消毒・殺菌剤としては、例えば次亜塩素酸ナトリウム、さらし粉、クロラミンT、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、クロルヘキシジン塩、ポリアルキレンピグアニジン塩、ホルマリン、グルタルアルデヒド、ポンビドンヨードなどが挙げられる。

消毒剤（殺菌剤）としては、例えば、まな板、調理台など、食中毒菌などの病原性菌が検出された所を消毒したり、殺菌したり、あるいは洗浄したりするために一般的に使用されているもの、あるいはそうした目的に好ましいことが見いだされたものの中から選んで用いることもできる。こうした洗浄剤（消毒剤）としては、例えば、上記した次亜塩素酸ナトリウム（和光純薬工業（株））、テゴ51（10%：商品名；日本商事（株））、キッチンカビキラー（商品名；ジョンソン（株））、キッチンハイター（商品名；花王（株））などが挙げられる。

またこうした洗浄剤（消毒剤）は、例えば、黄色ブドウ球菌（*Staphylococcus aureus*）ATCC 25923、大腸菌（*Escherichia coli*）ATCC 25922、*Enterobacte*

r faecalis ATCC 29212、Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 などの標準菌株を使用して、次のような検定法を用いてその消毒効果が十分にあることが認められたものであってよい。

消毒（殺菌）効果検定法

（１）菌液の調製

24時間培養した標準菌株：

Staphylococcus aureus ATCC 25923

Escherichia coli ATCC 25922

Enterobacter faecalis ATCC 29212

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853

を使用し、滅菌生理食塩水にてマクファーランド標準濁度 No. 1 (3.0×10^8 CFU/ml) に調製する。

（２）殺菌方法

各洗浄液を原液として、最終濃度 10% で 5 分間上記（１）で調製した菌液と接触させる。

（３）培養方法

上記（２）のように洗浄液と 5 分間接触させた菌液を原液として、滅菌生理食塩水にて 10 倍 ($\times 10$)、100 倍 ($\times 100$) に希釈後、それぞれを血液寒天培地に 0.1 ml ずつ接種し、培養する。また、コントロールとして、洗浄剤を使用しない系を作り、同様に培養する。37℃で 48 時間培養し、発育してきたコロニー数をコントロールと比較してその消毒効果を評価する。

例えば、洗浄剤として、次亜塩素酸ナトリウム（和光純薬工業（株））、テゴ－51（10%：商品名；日本商事（株））、キッチンカビキラー（商品名；ジョンソン（株））、キッチンハイター（商品名；花王（株））などでは、5 分以内で使用した標準菌株をすべて殺菌することが確かめられた。

図 4 には、本発明の菌検出器具の他の態様の例を示す。この図 4 の態様においては、培地 3 が容器 1 中に落下する際に、棒状部材 6 a を伝う該培地 3 の落下を促進させるようにガイドする機能を有する「ガイド部材」20 が、仕切り部材 5

の下方に設けられている。図4の構成は、上記ガイド部材20が設けられている以外は、図1の構成と同様である。

ガイド部材20が、棒状部材6aを伝う培地3の落下を促進させるガイド機能を果たす限り、該ガイド部材20の材質、形状、大きさ等は特に制限されない。棒状部材6aを伝う培地3の落下の促進が容易な点からは、ガイド部材20は、少なくともその一部が、容器1の内径より小さい内径を有することが好ましい。

より具体的には例えば、該ガイド部材20は図4に示すように、その下端が容器1の中心方向に若干傾いている（すなわち、その下端が容器1の内径より小さい内径を有する）「羽根」状部材からなることが好ましいが、このような「傾き」は省略することも可能である。図5には、ディスク部材7を容器1に配置せしめた場合の態様の本発明の菌検出器具が示されている。

図6～図11は、本発明の菌検出器具の別の代表的な具体例において、それが基本的に備える構成、特に培養後の培地等を消毒及び／又は殺菌する手段として基本的に備える構成を説明するものである。図6は該菌検出器具の主に断面形態を示し、図7は該菌検出器具の主に外観形態を示し、図8は該菌検出器具の容器21の外観形態を示し、図9aは該菌検出器具の容器21の上方から見た形態を示し、図9bは該菌検出器具の容器21の側面から見た断面形態を示し、図10aは該菌検出器具の蓋体22の形態であって、容器21との係合部側から見た形態を示し、図10bは該菌検出器具の蓋体22の側面からの主に外観形態を示し、図10cは該菌検出器具の蓋体22の形態であって、上方（キャップ部261側）から見た形態を示し、そして図11は該菌検出器具の容器21の側面から見た断面形態を示している（図10及び図11では菌採取部は省略されている）。

図6において蓋体22は、培地を入れたアンプル24を収容することのできる蓋体構成部材23と消毒剤をいれたアンプル28を収容することのできる蓋体構成部材27とキャップ部材261とから主に構成されている。蓋体構成部材23の底部側、即ち円筒形の容器21との係合部側には突起32が設けられている。突起32は蓋体構成部材23の円周方向全体に設けられて、結局蓋体構成部材2

3の容器21との係合部側が肉厚となっているものでもよいし、あるいは突起32は部分的にその突起部が蓋体構成部材23の内面側に所々とび出るように設けられたもの、例えば、棧などの突起などであることもできる。蓋体構成部材23の頂部側、即ちキャップ部材261側の端部34には、好ましい態様では蓋体構成部材27に設けられたネジ山と螺合しうるようにネジ切りがされて、蓋体構成部材27の本体を回転させることにより、蓋体構成部材27のアンプル28を収容する部分の底部35を容器21側に押し込むことができるようになっている。あるいは蓋体構成部材23の頂部側、即ちキャップ部材261側の端部34は、蓋体構成部材27の容器21側の端部としっかり係合し、蓋体構成部材27を容器21側にスライドさせて押し込むことにより、蓋体構成部材27のアンプル28の収容部の底部35を容器21側に容易に押し込むことができ、アンプル24を容器21側に押し込むことができるようになっている。

蓋体構成部材27は、そのアンプル28の収容部の底部部分35にはアンプル28を破壊した場合に下記するようにその中の消毒剤が容器21に流れ込めるように貫通孔が設けられている。蓋体構成部材27の底部側、即ちアンプル24側には、蓋体構成部材23と同様に突起33が設けられている。この突起33は上記突起32と同様に蓋体構成部材27の円周方向全体に設けられて、結局蓋体構成部材27のアンプル24側のアンプル28の収容部の底部35側が肉厚となっているものでもよいし、あるいは突起33は部分的に突起部が蓋体構成部材27の内面側に所々とび出るように設けられたものであることもできる。蓋体構成部材27の頂部側、即ちキャップ部材261側の端部37には、好ましい態様ではキャップ部材261に設けられたネジ山と螺合しうるようにネジ切りがされて、キャップ部材261のヘッド部を回転させることにより、キャップ部材261の底部36をアンプル28側に押し込むことができるようになっている。あるいは蓋体構成部材27の頂部側、即ちキャップ部材261側の端部37は、キャップ部材261としっかりと係合し、そのキャップ部材261を上から容器21側にスライドさせて押し込むことにより、キャップ部材261のアンプル28側の底部36を容器21側に容易に押し込むことができ、アンプル28を容器21側に押し込むことができるようになっている。

先ず蓋体構成部材27の本体部を回転させて（あるいは容器側に押し込んで）、蓋体構成部材27のアンブル28の収容部の底部35を容器21側に押し込むと、該底部35がアンブル24を押し下げる。押し下げられたアンブル24は、蓋体構成部材23に設けられた突起32の傾斜面で支えられることとなる。こうしてアンブル24と突起32の傾斜面との接点Aにおいて、蓋体構成部材27を容器21側に押し込むにつれてテンションがかかることとなり、アンブル24の下部を破壊し、内容物を放出することを許す。アンブル24からでた内容物は、重力にしたがい、容器21に流れ込み菌採取部26bと接触することになる（なお、図6では容器21と蓋体22との係合部に設けられている貫通孔、菌採取部取付部、蓋体と容器の係合部の細部構造などは省略されている）。

菌培養後消毒処理時には、キャップ部材261の頂部を回転させて（あるいは容器側に押し込んで）、キャップ部材261の底部36をアンブル28側に押し込むと、キャップ部材261の底部36がアンブル28を押し下げる。押し下げられたアンブル28は、蓋体構成部材27に設けられた突起33の傾斜面で支えられることとなる。こうしてアンブル28と突起33の傾斜面との接点Bにおいて、キャップ部材261を容器21側に押し込むにつれてテンションがかかることとなり、アンブル28の下部を破壊し、内容物を放出することを許す。アンブル28からでた内容物は、重力にしたがい、蓋体構成部材27のアンブル28の収容部の底部35に設けられた貫通孔を通して、容器21に流れ込み菌培養物と接触することになる。アンブルはガラス製、硬質プラスチック製などのもので、機械的な力がかかると（特に部分的に機械的な力がかかると）破碎し易いものが、使い勝手からみて好ましい。

培養された病原菌などを含有する培地や菌の付着している可能性の高い容器内空間は、消毒剤によって消毒及び／又は殺菌せしめられる。こうして安全に器具を廃棄処理可能な状態にすることができる。本発明の菌検出器具の培養系は外界あるいは環境に対して実質的に密閉した状態に保たれたまま、その培地を容器1内に供給しての培養の開始から、培養された培地を観察することによる所定の菌の検出・検知、そして最後に廃棄可能のように容器を消毒・殺菌することが可能である。測定対象菌が病原菌には限られず、普通の菌であっても環境を汚染する

こと（あるいはその可能性）を避けるという意味からも、本発明の菌検出器具は有用である。また本発明の菌検出器具は携帯性に優れているから、それを安全且つ確実に廃棄可能なように消毒・殺菌することが可能であることは有用である。また本発明の菌検出器具はその構造からも熟練者でなくとも確実な操作が簡単に遂行できることがわかる。

図12および図13は、本発明の菌検出器具の別の代表的な具体例において、それが基本的に備える構成、特に培養後の培地等を消毒及び／又は殺菌する手段として基本的に備える構成を説明するものである。

図13において蓋体42は、培地を入れたアンプル44を収容することのできる蓋体構成部材43と消毒剤をいれたアンプル48を収容することのできる蓋体構成部材47とキャップ部材49とから主に構成されている。蓋体構成部材43の底部側、即ち円筒形の容器41との係合部59側には突起52が設けられている。突起52は蓋体構成部材43の円周方向全体に設けられて、結局蓋体構成部材43の容器41との係合部59側が肉厚となっているものでもよいし、あるいは突起52は部分的に突起部が蓋体構成部材43の内面側に所々とび出るように設けられたもの、例えば、栈などの突起などであることもできる。蓋体構成部材43の頂部側、即ちキャップ部材49側の端部54には、好ましい態様では蓋体構成部材47に設けられたネジ山と螺合しうるようにネジ切りがされて、蓋体構成部材47のヘッド部45を回転させることにより、蓋体構成部材47の底部55を容器41側に押し込むことができるようになっている。蓋体構成部材47は、その底部55の部分にはアンプル48を破壊した場合に下記するようにその中の消毒剤が容器41に流れ込めるように貫通孔が設けられている（なお、図13では貫通孔は図示されていない）。蓋体構成部材47の底部側、即ちアンプル44側には、蓋体構成部材43と同様に突起53が設けられている。この突起53は上記突起52と同様に蓋体構成部材47の円周方向全体に設けられて、結局蓋体構成部材47のアンプル44側の底部55側が肉厚となっているものでもよいし、あるいは突起53は部分的に突起部が蓋体構成部材47の内面側に所々とび出るように設けられたものであることもできる。蓋体構成部材47の頂部側、即

ちキャップ部材49側の端部57には、好ましい態様ではキャップ部材49に設けられたネジ山と螺合しうるようにネジ切りがされて、キャップ部材49のヘッド部を回転させることにより、キャップ部材49の底部56をアンプル48側に押し込むことができるようになっている。

先ず蓋体構成部材47のヘッド部45を回転させて、蓋体構成部材47を容器41側に押し込むと、蓋体構成部材47の底部55がアンプル44を押し下げる。押し下げられたアンプル44は、蓋体構成部材43に設けられた突起52の傾斜面で支えられることとなる。こうしてアンプル44と突起52の傾斜面との接点Aにおいて、蓋体構成部材47を容器41側に押し込むにつれてテンションがかかることとなり、アンプル44の下部を破壊し、内容物を放出することを許す。アンプル44からでた内容物は、重力にしたがい、容器41に流れ込み菌採取部46bと接触することになる（なお、図13では59の部分に設けられている貫通孔、菌採取部取付部、蓋体と容器の係合部の細部構造などは省略されている）。

菌培養後消毒処理時には、キャップ部材49の頂部461を回転させて、キャップ部材49の底部56をアンプル48側に押し込むと、キャップ部材49の底部56がアンプル48を押し下げる。押し下げられたアンプル48は、蓋体構成部材47に設けられた突起53の傾斜面で支えられることとなる。こうしてアンプル48と突起53の傾斜面との接点Bにおいて、キャップ部材49を容器41側に押し込むにつれてテンションがかかることとなり、アンプル48の下部を破壊し、内容物を放出することを許す。アンプル48からでた内容物は、重力にしたがい、蓋体構成部材47の底部55に設けられた貫通孔（図示されていない）を通して、容器41に流れ込み菌培養物と接触することになる。アンプルはガラス製、硬質プラスチック製などのもので、機械的な力がかかると（特に部分的に機械的な力がかかると）破碎し易いものが、使い勝手からみて好ましい。

培養された病原菌などを含有する培地や菌の付着している可能性の高い容器内空間は、消毒剤によって消毒及び／又は殺菌せしめられる。こうして安全に器具を廃棄処理可能な状態にすることができる。本発明の菌検出器具の培養系は外界あるいは環境に対して実質的に密閉した状態に保たれたまま、その培地を容器1

内に供給しての培養の開始から、培養された培地を観察することによる所定の菌の検出・検知、そして最後に廃棄可能なように容器を消毒・殺菌することが可能である。測定対象菌が病原菌には限られず、普通の菌であっても環境を汚染すること（あるいはその可能性）を避けるという意味からも、本発明の菌検出器具は有用である。また本発明の菌検出器具は携帯性に優れているから、それを安全且つ確実に廃棄可能なように消毒・殺菌することが可能であることは有用である。また本発明の菌検出器具はその構造からも熟練者でなくとも確実な操作が簡単に遂行できることがわかる。

図14は、本発明の菌検出器具の代表的な具体例において、図12や図13と同様にそれが基本的に備える構成、特に培養後の培地等を消毒及び／又は殺菌する手段として基本的に備える構成を説明するものである。

図14において蓋体は、消毒剤をいれたアンプル64および培地を入れたアンプル68を収容することのできる蓋体構成部材62から主に構成されている。蓋体構成部材62の内側でアンプル64、68の表面と接する側には、突起73および74が溝状（あるいは畝状）に設けられている（例えば、図14（c）参照）。アンプルを収納している蓋体62の直径（あるいは外径）よりやや小さな径をもつリング77（図14（a）参照）を用意し、蓋体62の頂部71から容器61側に通すと、蓋体62のうち72の部分では突起がないため、該リング77はスムーズに通るが、72の部分を通ると突起73および74によるテンションがアンプルに掛かるようになり、アンプルを側面から破壊する。突起73および74は容器61側に近づくにしたがい、よりアンプル側にとび出るようにするとリング77を蓋体62の頂部71から容器61側に通していくにしたがい、より大きなテンションがアンプルに掛かるようになる（なお、図14では、アンプル64、68より出た培地及び消毒剤が容器61に入っていくための貫通孔、菌採取部取付部、蓋体と容器の係合部の細部構造などは省略されている）。

別の態様では、蓋体は、上記と同様（i）培地を入れたアンプル64および（ii）消毒剤をいれたアンプル68を収容することのできる蓋体構成部材62から主に構成されている。リング77を蓋体62の容器61側の部分76の所に予め組み

込んで置き、そのリング77を蓋体62の頂部71側に上昇させることにより、上記と同様にして下部のアンブル64から破碎していくこともできる。

さらに別の態様では、蓋体は、(i) 消毒剤をいれたアンブル64および(ii)培地を入れたアンブル68を収容することのできる蓋体構成部材62から主に構成されており、用意されたリング77は蓋体62の頂部71から容器61側に通し、アンブル68を側面から破壊する。こうしてアンブル68を破壊するように動かされたリング77は蓋体62の中程の部分の所まで動かしたのち、そこに留めるか、あるいは上方に動かして頂部71から抜き去る。一方アンブル64を破壊するためには予めリング77（以下リング77' という）（図示されていない）を蓋体62の容器61側の部分76の所に予め組み込んで置き、そのリング77' を蓋体62の頂部71側に上昇させることにより、下部からアンブル64を破碎する。また、蓋体は、培地を入れたアンブル64および消毒剤をいれたアンブル68を収容することのできる蓋体構成部材62から主に構成して、リング77およびリング77' を上記とは逆の順序で移動させて、先ず培地を容器61内に供給し、培養後消毒剤を容器61内に供給できるようにすることもできる。

図15は、本発明の菌検出器具の代表的な具体例において、それが基本的に備える構成、特に培養後の培地等を消毒及び／又は殺菌する手段として基本的に備える構成を説明するものである。

図15において蓋体82は、(i) 培地を入れたアンブル84および(ii)消毒剤をいれたアンブル88を収容することのできる蓋体構成部材から主に構成されている。蓋体構成部材82には容器81と反対側の頂部99にプッシュ式押し下げ部材91、93を備えている。該押し下げ部材91にはアンブル84の頂部に対して安定して力が作用するような形状の部分92が設けてある。同様に該押し下げ部材93にはアンブル88の頂部に対して安定して力が作用するような形状の部分94（図では符号は省略されている）が設けてある。

先ずプッシュ式押し下げ部材91を押し込むと、部分92を介してアンブル84を押し下げる。すると蓋体82の内側（アンブル収納側）の容器81に近い側に設けられた傾斜面（あるいは棧状突起）（図示されていない）とアンブル8

4との接点95でテンションがかかり、アンプルの下部を破碎することとなり、培地をアンプルから出すこととなり、重力により係合部89の貫通孔（図示されていない）を通して、培地は容器81の中に入る。菌培養後は、もう一つのプッシュ式押し下げ部材93を押し込むと、部分94を介してアンプル88を押し下げる。すると蓋体82の内側（アンプル収納側）の容器81に近い側に設けられた傾斜面（あるいは稜状突起）（図示されていない）とアンプル88との接点96でテンションがかかり、アンプルの下部を破碎することとなり、消毒剤をアンプルから出すこととなり、重力により係合部89の貫通孔（図示されていない）を通して、消毒剤は容器81の中に入る。

プッシュ式押し下げ部材91、93は、蓋体82の頂部99に、ある一定以上の外力により押し込み可能なように取り付けられているものであることができる。またプッシュ式押し下げ部材91、93は、蓋体82の頂部99にネジ式で係合されていることができ、この場合は押し下げ部材91、93は、それを回転して容器81の側に押し込むことができる構成となっている。

いずれにせよ、本発明の菌検出器具を使用して培地や消毒剤を出す必要が生ずるまでは、アンプルなどの袋状部材を破損してその内容物を出すことがないが、一旦必要となったときにはそれぞれ任意に出すことができる構造となっていればよい。

図16は、本発明の菌検出器具の代表的な具体例において、それが基本的に備える構成、特には培養後の培地等を消毒及び／又は殺菌する手段として基本的に備える構成を説明するものである。

図16において円筒状の蓋体102は、蓋体102の下側およそ半分を構成する蓋体構成部材112と蓋体102の上側およそ半分を構成する蓋体構成部材111とから主に構成されている。そして蓋体構成部材112と蓋体構成部材111とは少なくともそのうちの片方は他方に対して蓋体102の円周に沿って回転できるようにされている。また蓋体102の中には培地を入れたアンプル104および消毒剤をいれたアンプル108が収容されている。蓋体構成部材112の内側にはアンプル104、108に接するように突起部113が設けられて

いる。蓋体構成部材111にはアンプル104、108をそれぞれ収容できるようにホール124、128（図では符号は省略されている）が設けられている。蓋体構成部材112の上に（容器101と反対側に）蓋体構成部材111が来るように配置して蓋体102を構成し、蓋体構成部材111に設けられたホール124にアンプル104をいれ、同じくホール128にアンプル108をいれる。そしてその入れられたアンプル104、108は蓋体構成部材112部分では、図16の（a）の如く突起部113に対するように配置される。

例えば、上部の蓋体構成部材111を反時計回りの方向に90度回転させると、アンプル104の突起部113との接触部115の部分でテンションがかかることになり、アンプル104が破碎され、内容物の培地が流出する。外に出た培地は重力により、蓋体102と容器101との係合部にある貫通孔（図示されていない）を通して容器101に入り、菌採取部106bと接触することとなる。上部の蓋体構成部材111をさらに反時計回りの方向に回転させる（180度回転させる）と、アンプル108の突起部113との接触部分（図示されていない）でテンションがかかることになり、アンプル108が破碎され、内容物の消毒剤が流出する。外に出た消毒剤は重力により、蓋体102と容器101との係合部にある貫通孔（図示されていない）を通して容器101に入り、菌培養物をはじめとして器具を消毒・殺菌することとなる。あるいは、アンプル108を破壊する場合上記のように反時計回りの方向へ180度回転させる代わりに、上部の蓋体構成部材111を時計回りの方向へ回転させると、アンプル108の突起部113との接触部部分116でテンションがかかることになり、アンプル108が破碎され、内容物の消毒剤が流出する。

本発明の菌検出器具では、培地や消毒剤を出す必要が生ずるまでは、アンプルなどの袋状部材を破損してその内容物を出すことがないように、ツメなどを備えてそのアンプルなどの袋状部材を破壊する機構が働かないようにしたり、あるいはある程度の外力でないと回転しないとか、押し込むことができないなどの構造として、そのアンプルなどの袋状部材を破壊する機構が働かないようにすることができる。また本発明の菌検出器具では、培地や消毒剤を出す必要が生ずるまでは、アンプルなどの袋状部材を破損してその内容物を出すことがないように、袋

状部材を破壊する機構にキャップなどの保護を施して置くこともできる。

図17～図33は、本発明の菌検出器具の別の代表的な具体例において、それが基本的に備える構成、特に培養後の培地等を消毒及び／又は殺菌するための手段として基本的に備える構成を説明するものである。図17は該菌検出器具の主に外観形態を示し、図17の該菌検出器具の主に断面形態を図18に示す。図19～図33には、該菌検出器具を構成する各部材のより詳細な形状が示してある（なお、これらの図においては、菌採取部などは分かりやすいように省略されている場合がある）。

キャップ部材（561）の主に外観形態は図19に示され、該キャップ部材（561）の主に断面形態は図20に示され、図21は該キャップ部材（561）のI-I'切断面から下方を見た切断形態を主に透視図的に示してある。該菌検出器具を構成する蓋体構成部材（247）の外観形態は図22に主に示されており、該蓋体構成部材（247）の断面形態は図23に主に示され、図24は該蓋体構成部材（247）をII方向からみた外観形態を主に示し、図25は該蓋体構成部材（247）をIII方向からみた外観形態を主に示している。図26は該菌検出器具を構成する蓋体構成部材（243）の外観形態を主に示し、図27は該蓋体構成部材（243）の断面形態を主に示し、図28は該蓋体構成部材（243）をIV方向からみた外観形態を主に示し、図29は該蓋体構成部材（243）をV方向からみた外観形態を主に示してある。該菌検出器具を構成する容器（241）の外観形態は図30に主に示してあり、該容器（241）の断面形態は図31に主に示してあり、図32は該容器（241）をVI方向からみた外観形態を主に示し、図33は菌採取部（246b）の取り付けられた該菌検出器具の該容器（241）のG-G'切断面での切断形態を主に示している。

図17及び18において蓋体242は、（a）培地を入れたアンプル244を収容することのできる蓋体構成部材243と（b）消毒剤をいれたアンプル248を収容することのできる蓋体構成部材247と（c）キャップ部材（249、561）とから主に構成されている。蓋体構成部材243の底部側、即ち円筒形

の容器241との係合部259側には突起252が設けられている。突起252は蓋体構成部材243の円周方向全体に設けられて、結局蓋体構成部材243の容器241との係合部259側が肉厚となっているものでもよいし、あるいは突起252は部分的に突起部が蓋体構成部材243の内面側に所々とび出るように設けられたもの、例えば、栈などの突起などであることもできる。本図面に示される例では、図28に示されているように該突起252は4箇所にくさび形断面を持つようにして設けられているのがわかる。こうした該突起252の形状はアンプル244との接触点Aにおいて大きな破壊力を生ぜしめるに有効である。こうした作用効果を期待できる形状は、この他に機械器具の分野、特に容器の分野で広く知られたもののうちから当業者が適宜選択して採用できる。蓋体構成部材243の頂部側、即ちキャップ部材249側の端部領域は、好ましい態様では蓋体構成部材247に設けられた係合リセス部299と嵌合しうるように突起部297が設けられており、蓋体構成部材247のヘッド部245を容器241方向に押動させることにより、蓋体構成部材247の底部235を容器241側に押し込むことができるようになっている。

本図面に示される例では、該突起部297は、図28に示された突起部252と同様に円筒形状の部材243の内壁の4箇所に設けられ、それと対応して該係合リセス部299は部材247の容器241側の外壁に4箇所設けられている。こうした突起部297と係合リセス部299は、互いが係合して蓋体構成部材243の内側に蓋体構成部材247を嵌着でき、好ましくはアンプル244の破壊時には蓋体構成部材247を容器241側に摺動し得るものであれば、その構造は特に限定されない。こうした作用効果を期待できる形状であれば、この他に機械器具の分野、特に容器の分野で広く知られたもののうちから当業者が適宜選択して採用できる。蓋体構成部材247は、その底部235の部分にはアンプル248を破壊した場合に下記するようにその中の消毒剤が容器241に流れ込めるように貫通孔が設けられている（図25参照）。蓋体構成部材247の底部側、即ちアンプル244側の内側には、蓋体構成部材243と同様に突起253が設けられている。この突起253は上記突起252と同様に蓋体構成部材247の円周方向全体に設けられて、結局蓋体構成部材247のアンプル244側の底

部側が肉厚となっているものでもよいし、あるいは突起253は部分的に突起部が蓋体構成部材247の内面側に所々とび出るように設けられたもの（例えば、棧などの突起のようにになっているもの）であることもできる。本図面に示される例では、図24に示されているように該突起253は4箇所にくさび形断面を持つようにして設けられているのがわかる。蓋体構成部材247の頂部側、即ちキャップ部材249側の端部245には、好ましい態様ではキャップ部材249に設けられたネジ山257と螺合しうるようにネジ切りがされて、キャップ部材249のヘッド部を回転させることにより、キャップ部材249の底部256をアンプル248側に押し込むことができるようになっている。

例えば、図18を参照するとよくわかるように、先ず蓋体構成部材247のヘッド部245を容器241方向に押し下げ、蓋体構成部材247を蓋体構成部材243の中へと押し込むと、蓋体構成部材247の底部235がアンプル244を押し下げる。押し下げられたアンプル244は、蓋体構成部材243に設けられた突起252の傾斜面で支えられることとなる。こうしてアンプル244と突起252の傾斜面との接点Aにおいて、蓋体構成部材247を容器241側に押し込むにつれてテンションがかかることとなり、アンプル244の下部を破壊し、内容物を放出することを許す。アンプル244からでた内容物は、重力にしたがい、第一の仕切り部材296に設けられた貫通孔（図29参照）を通り、容器241に流れ込み菌採取部246bと接触することになる（なお、図28ではアンプル244は省略されて示されており、さらに図29では、その中央部に設置されるべき菌採取部は省略されて示されている）。本図面に示された例では、図28及び図29を参照してわかるように貫通孔は扇形のものが4個設けられている。

菌培養後消毒処理時には、キャップ部材249の頂部561を回転させて、キャップ部材249の底部256をアンプル248側に押し込むと、キャップ部材249の底部256がアンプル248を押し下げる。押し下げられたアンプル248は、蓋体構成部材247の内側部に設けられた突起253の傾斜面で支えられることとなる。こうしてアンプル248と突起253の傾斜面との接点Bにおいて、キャップ部材249を容器241側に回転して押し込むにつれてテンショ

ンがかかることとなり、アンプル248の下部を破壊し、内容物を放出することを許す。アンプル248からでた内容物は、重力にしたがい、蓋体構成部材247の底部235に設けられた貫通孔（図25参照）を通して、容器241に流れ込み菌培養物と接触することになる（なお、図24では、アンプル248は省略されて示されている）。本図面に示された例では、図24及び図25を参照してわかるように貫通孔は扇形のものが4個設けられている。アンプルはガラス製、硬質プラスチック製などのもので、機械的な力がかかると（特に部分的に機械的な力がかかると）破碎し易いものが、使い勝手からみて好ましい。

該図面に示された菌検出器具では、蓋体構成部材及びキャップ部材（両者は螺合し一体的に可動である）をスライドして押し込むだけで培地アンプルを破壊して培養のための容器内に培地を供給できるのに対して、消毒・殺菌剤アンプルはそれを収容する蓋体構成部材と螺合しているキャップ部材を回転せしめて押し込むことにより、はじめて破壊されてその内包された消毒・殺菌剤を培養のための容器内に導くことができることから、その菌検出器具の使い勝手において優れている。本発明の菌検出器具においては、該スライド動作の開始を一定の力が働かなければ生起し得ないようにロック機構を設けておくことも可能である。またキャップ部材の回転運動の開始を一定の力が働かなければ生起し得ないようにロック機構を設けておくことも可能である。こうしたロック機構を与える構造としては、容器の分野で知られたもののうちから選んで使用することができる。該菌検出器具の大きさは特に制限はないが、携帯性の観点から、その全体の大きさは、例えば、長さで約5 cm～約40 cm、好ましくは約10 cm～約30 cm、より好ましくは約15 cm～約25 cm、そして直径で約3 mm～約50 mm、好ましくは約6 mm～約30 mm、より好ましくは約8 mm～約25 mmのものが挙げられる。該菌検出器具の大きさは上記以外の大きさとすることもその目的及び操作性、そして器具を構成する材料の材質などを勘案して当業者であれば自由に選択設計できる。

図34～図51は、本発明の菌検出器具の別の代表的な具体例において、それが基本的に備える構成、特には培養後の培地等を消毒及び／又は殺菌するための

手段として基本的に備える構成を説明するものである。

図34は本発明の菌検出器具を構成する各部品の組み立てを説明する図である。図34において、キャップ部材761、消毒剤をいれたアンプル748、アンプル748を収容することのできる蓋体構成部材747、培地を入れたアンプル744、アンプル744を収容することのできる蓋体構成部材743、菌採取部746（棒状部材746a、菌採取端746b）、そして容器741が示されている。図34で示された組立概念は図17～図33に示された本発明の菌検出器具においても適用できるものである。

図35は該菌検出器具の主に断面形態を示す。図36には、図22で示されたと同様の該菌検出器具を構成する蓋体構成部材（747）の外観形態が主に示されており、該蓋体構成部材（747）のM-M'線の断面形態は図37に主に示され、図38は該蓋体構成部材（747）をVII方向からみた外観形態を主に示し、図39は該蓋体構成部材（747）をVIII方向からみた外観形態を主に示している（図38及び図39では、該蓋体構成部材（747）の容器側端部に突起部753に連なる橋渡し部がみえるが、その橋渡し部に斜めに交差するように描かれているものは、プラスチック樹脂を成形加工する際に偶発的に生じた「バリ」であり、好ましくは製品ではそうした「バリ」は取り除かれている）。

図40には、図23で示されたと同様の該菌検出器具を構成する蓋体構成部材（747）の断面形態が主に示されており、778は蓋体構成部材（747）の内壁に設けられた凸状の小さな畝で、753はアンプル748を破壊するための突起部である。本菌検出器具では、図23（さらに図24）に示された253と異なり、753はそこに1か所設けられているのみであるし（図38参照）、その形状も異なっている（図40参照）。本発明の菌検出器具では、こうしたアンプル破壊機構やそれを可能にする構造も、本発明の特徴の一つであり、こうした機能を有する器具や、部材は本発明の一部を構成する。図37からもわかるように、該蓋体構成部材（747）には凹状の浅い溝777が設けられている。該溝777は、以下で説明するように図44によってその断面形態を主に示されている該菌検出器具を構成する蓋体構成部材（743）の内壁に設けられた凸状の小さな畝（781、782、783等）と嵌合し得るように形成されている。図の

例では、溝777の長さは4本すべて同じになっているが、該溝の本数・長さは必要に応じて適宜変更可能である。また、図40ではアンプル748を破壊した場合重力にしたがいそのアンプル748内にあった消毒剤（液体）が流れ落ちる貫通孔は見えないが、図38及び図39を参照すれば該貫通孔は容易に理解されよう。

なお、図35及び図40では、蓋体構成部材（747）の容器（741）側の1/3程のその内径は、広くなっていたり、あるいはそのキャップ部材（761）側の内径と同じ程度であるように図示されているが、収容するアンプル748の動きを制限するように、その内径がそのキャップ部材（761）側の内径より狭くなっているものも好ましい。

図41には図26で示されたと同様の該菌検出器具を構成する蓋体構成部材（743）の外観形態が主に示されており、図42は該蓋体構成部材（743）をIX方向からみた外観形態を主に示し、図43は該蓋体構成部材（743）をX方向からみた外観形態を主に示している。図35、図42、そして図43を参照すれば、アンプル744を破壊した場合重力にしたがいそのアンプル744内にあった培地（液体）が流れ落ちる貫通孔の存在が容易に理解されよう。本例では該貫通孔は扇状の形状のものが三つ設けられていることがわかる。アンプル748を破壊した場合重力にしたがいそのアンプル748内にあった消毒剤（液体）も、該貫通孔を通して流れ落ちて、容器741に入る。

蓋体構成部材（743）の内壁には凸状の小さな畝（781、782、783、784）が設けられている。図44をみると、凸状の小さな畝は、N-N'線では781及び783の二本であるが（N-N'線の断面図である図45参照）、P-P'線では781、782、783、及び784の四本となっている（P-P'線の断面図である図46参照）。図47にはQ-Q'線の断面図が示してある。凸状の小さな畝781は、785に連続して連なっており、さらに752に連なっているが、他の782などでは786に連続して連なるが、752のような突起部はない。本菌検出器具では、図27に示された252と異なり、752はそこに1か所設けられているのみであるし、その形状も異なっている。本発

明の菌検出器具では、こうしたアンプル破壊機構やそれを可能にする構造も、本発明の特徴の一つであり、こうした機能を有する器具や、部材は本発明の一部を構成する。

図48には、透明な（あるいは半透明な）材質で形成された蓋体構成部材（743）の斜視外観図が一部透過的に示され、そこでは蓋体構成部材（743）の内壁に設けられた凸状の小さな畝（781、782、さらにそれに連なる785、752）の配置の様子が理解できるが、781は782より長く蓋体構成部材（747）の受容側に延びている。該凸状の小さな畝は、それに連なる785の所からより凸の山を大きくして（より突き出して）収容するアンプル744を緩く固定できるようにすることができる。蓋体構成部材（743）の外壁の790の領域は、磨硝子のようにその表面に微細な凹凸を設けて滑り難くしてある。該磨硝子のような微細な凹凸は蓋体構成部材（743）の外壁の一部に設けたものであってもよいし、全体的に設けたものであってもよい。

図34～図51に示された器具は、基本的な形態は図17～図33に示された本発明の菌検出器具と同様であるが、培養開始まではロック機構によって、該蓋体構成部材（747）が該蓋体構成部材（743）の中に押し込まれてそれにより該蓋体構成部材（743）の中に収容されているアンプル744を破壊することが無いようにされ、一方培養開始時には該蓋体構成部材（747）を該蓋体構成部材（743）に対して回転するだけで、簡単にロック機構が解除され、該蓋体構成部材（747）を該蓋体構成部材（743）の中に押し込むことができ、アンプル744を破壊して培地を容器741に供給できる構造となっている点で特徴を有するものである。

図49～図51には、該ロック機構とその解除の概念が説明されている。該菌検出器具の使用前の状態では、蓋体構成部材（743）の内側に設けられた長い方の凸状の小さな畝781と、蓋体構成部材（747）の外側に設けられた凹状の浅い溝777とは、互いに嵌合することがないようにして、蓋体構成部材（743）の中に蓋体構成部材（747）を挿入すると、凸状の小さな畝781と蓋体構成部材（747）の外側表面との間での大きな摩擦係合力により該部材

は固定され、おおよそ図49に示されたような位置で互いの部材は留まる。つまり、該停止位置を超えて該部材747を該部材743の中へ（容器側へ）押し込むことができないように固定されている。

アンプル744を破壊する時には、例えば、図49で示された矢印の方向に蓋体構成部材（747）を回転させると、図50で示されるように凹状の浅い溝777と凸状の小さな畝781とが互いに嵌合し、凸状の小さな畝781と蓋体構成部材（747）の外側表面との間で生じていた摩擦係合力がなくなり、図50で示された矢印の方向に蓋体構成部材（747）を押し込むことが可能になる。そして、図51に示されるように蓋体構成部材（747）を挿入することにより、蓋体構成部材（747）の底部でアンプル744の頭部を押し込むこととなり、それによりアンプル744を突起752に押しつけて破壊する。本例では最終的に蓋体構成部材（743）の内側に設けられた凸状の畝（4本）と蓋体構成部材（747）の外側に設けられた凹状の浅い溝（リセス部）（4本）とが互いに嵌合していることとなる。同時に、両蓋体構成部材743、747の係合面のうちキャップ部材761側では、互いが緊密に係合する。即ち、蓋体構成部材（743）の内壁と蓋体構成部材（747）の外壁とは緊密に接触して、ある程度の密封性を達成することができる。本発明の菌検出器具では、こうしたロック機構やそれを可能にする構造も、本発明の特徴の一つであり、こうした機能を有する器具や、部材は本発明の一部を構成する。

図34～図51に示された本発明の菌検出器具は、基本的な形態・大きさ等は図17～図33に示されたものと同様であるので、それに準じて他の部材の詳細についても理解されるし、理解されるべきである。

図52は、蓋体構成部材（743）の容器（741）の係合部（776a）を部分的に一部断面として表わしたものである。菌採取部（746）の一端を菌採取部挿入部（789）に挿入固定することができるようになっており、菌採取部挿入部（789）の基部には培地・消毒剤の流通を図るように、貫通孔が存在していることがわかる。図52を参照するとわかるように、菌採取部挿入部789を取り囲むように突起部789aが設けられている。該突起部789aは、蓋体構成部材（743）の係合部（776a）に容器（741）の一端をネジ込んで

取付けた場合（螺合した場合）、該蓋体構成部材（743）と容器（741）とが緊密に係合するのを助けている。言い換えれば、該蓋体構成部材（743）と容器（741）の両者の係合部間を、例えば、ポリプロピレンなどのプラスチック樹脂を部材の構成材料として用いた場合、部材の材質が有する弾力性を生かして密封することができる。本発明の菌検出器具では、こうした蓋体構成部材（743）の容器（741）との係合部（776a）の構造も、本発明の特徴の一つであり、こうした機能を有する器具や、部材は本発明の一部を構成する。

図53～図69は、本発明の菌検出器具の別の代表的な具体例において、それが基本的に備える構成、特には培養後の培地等を消毒及び／又は殺菌するための手段として基本的に備える構成を説明するものである。

これらの図では、培地を入れたアンプルや消毒剤を入れたアンプルの破損を起こさないように、それらをより確実に保持する機構を備えた菌検出器具が示されている。図53、図55、図57、図59、図61及び図63は本発明の菌検出器具の外観斜視図である。図54は図53で示された本発明の菌検出器具を構成する部品1245（及び1561）、1243の組み立てを説明する図である。図56は図55で示された本発明の菌検出器具を構成する部品1245（及び1561）、1243の組み立てを説明する図である。図58は図57で示された本発明の菌検出器具を構成する部品1561、1245の組み立てを説明する図である。図60は図59で示された本発明の菌検出器具を構成する部品1561、1245の組み立てを説明する図である。図62は図61で示された本発明の菌検出器具を構成する部品1561、1245、1243の組み立てを説明する図である。図64は図63で示された本発明の菌検出器具を構成する部品1561、1245、1243の組み立てを説明する図である。

図53及び図57では、ガイド溝部分1004、1007は2か所に設けられている。一方図55及び図59では、ガイド溝部分1004、1007は1か所に設けられている。図61では、部材1243は2か所のガイド溝部分1004を持ち、部材1245は2か所のストッパー部1005と2か所のガイド溝部分1007を持ち、そしてキャップ部材1561は2か所のストッパー部1008

を有している。図63では、部材1243は1か所のガイド溝部分1004を持ち、部材1245は1か所のストッパー部1005と1か所のガイド溝部分1007を持ち、そしてキャップ部材1561は1か所のストッパー部1008を有している。ガイド溝は、1か所あるいは任意に複数か所設けることができる。図では、ガイド溝1004は部材1243の側壁を貫通して設けられているが、部材1243の側壁の内側を部分的に肉薄にして溝をつけて（溝を削って）貫通することなく設けてあってもよい。また図ではガイド溝1004は部材1243の側壁に設けられ、ストッパー部1005は部材1245の側壁で、部材1243との係合側に設けられているが、ガイド溝1004を部材1245の側壁に設け、ストッパー部1005を部材1243に設けることも可能である。同様に、ガイド溝1007、ストッパー部1008も設けることができる。ガイド溝の形状は、L字だけでなく、例えば、図70に示されたような形状とすることができる。

図65は本発明の菌検出器具の別の代表的な具体例において、それを構成する部材1561、1245を示す。図66も、本発明の菌検出器具の別の代表的な具体例において、それを構成する部品1561、1245を示す。図67は、図65に示された部材1561、1245と係合できる部材1243を示す。図68は、ガイド部分1004及びストッパー1005との関係を説明するための概念図である。図69はガイド部分1004及びストッパー1005との係合関係の拡大部分図である。

該菌検出器具の使用前では、部材1245と部材1243とは係合せしめられ（図54）、ストッパー1005はガイド溝1004の上部に位置している（図53）。図68を参照すると、ストッパー1005は図68-1ではBの位置にある。アンプルを破壊する時（使用時）には、部材1245を回転させ、ストッパー1005をつめ部分Aを越えて移動させる（図68-2及び図69）と、部材1245を部材1243側に押し込むことが可能になる。こうしてストッパー1005を位置Dまで移動することができる（図53では、ストッパー1005'の位置に対応している）。必要に応じて、つめ部分Cを設けて、ストッパー1

005を固定できるようにすることができる(図68-3)。図55～図64においても、同様の機構及び動きである。

図65では、部材1245の外壁には部分1351の面で部材1243との密着性を確保する工夫が設けられている例である。該密着性は、すり合わせ、ゴム皮膜など、当該分野、例えば、容器の分野で当業者に知られた手法から選んで達成することができる。図65には、部材1245の外壁の部分1350の面に部材1243との密着性を確保する工夫が設けられることも可能であることが示されているが、ストッパー1005・ガイド溝1004を設けた場合は、通常部分1351の面に設ける。

図67では、部材1245に形成されている部分1351の面と対応し、部材1243の内壁に密着性を確保する工夫(濃く影の付けられた領域)が設けられている例である。図67でも、図65と同様に、斜線で示された領域に密着性を確保する工夫が設けられることも可能であることが示されている。図67では、ガイド部分1004にストッパー1005を嵌め込むのが容易なように、浅い溝1360が形成されている。

図66では、部材1245を部材1243へ挿入する際、ストッパー1352は、部材1245の外壁側にフレキシブルに押し込まれうる構造(ストッパー1352は、力に応じて中の方あるいは外の方へ自由に可動である構造)となっている。

その他、培地を入れたアンプルや消毒剤を入れたアンプルの破損を起こさないようにして保持する機構としては、(i)部材1245と部材1243及び(ii)部材1561と部材1245において、一方に設けた凸部に、他方に設けた凹を係合させることによるものでもよいし、それに、該菌検出器具から取り除くことのできるストッパーを組み合わせたものであってもよい。該機構には、互いを固定した場合の位置を示す目印を付けておくことも含まれる。

本発明に従えば、培養開始前に存在する生菌数を、本発明の菌検出器具のような実質的閉鎖系中で、測定することが可能であることがわかった。本発明の菌検

出器具を使用すると、食品、料理用の器具・道具等に存在している生菌数を容易に、確實安全に、そして携帯性を有しながら評価することが可能である。したがって、本発明の菌検出器具を用いることにより、包丁やまな板などの料理用の器具・道具、飲物、環境などの様々なものの汚染の程度を素早く予測することができる。本発明の菌検出器具を用いることにより、どのような菌種であるかとか、菌量を容易に、簡便に、そして確實安全に判定することができる。

生菌数の測定は、本発明の菌検出器具に含まれている液体培地中で菌を培養し該菌検出器具から該培地を取り出すこと無く、培地の吸光度、濁度などを測定することにより行うことができる。測定は、測定機器を用いた方法、目視により、指標と比較して行うなどの方法、両者を組合わせた方法により実施できる。目視法としては、文字、線、絵、点などの標示物の認識の度合いを用いて判定するものであることができる。認識のための指標は、綿棒（菌採取部）、菌培養のための培地を受容する容器の内壁あるいはその外壁に、付けられたり、記されたものであってよい。該認識のための指標は、その形、色、濃淡を適宜選択されることができよう。定量的な測定のためには、菌培養のための培地に色素を入れるのを避けることが好ましい。本発明の測定で、初発菌数を予測することが可能である。

なお、図1および図3～70では本発明の菌検出器具の特徴点にしばって図示されており、その細部のうちには省略されている部分があることは理解されねばならない。したがって、本明細書並びに特許請求の範囲に示された本発明の器具の備える特徴を有するものは、その各種の改変された器具・より詳細に各構成部材を互いに係合させるなどの手段を備えたもの等も、本発明の範囲に含められると理解すべきである。

実施例

以下、実施例をあげて、本発明を更に具体的に説明するが、本発明は実施例に限定されることなく、様々な態様が含まれることは理解されるべきである。

実施例 1

(黄色ブドウ球菌検出器具の作製)

図5を参照して、下記の材料を用いて、下記の寸法を有する菌検出器具を作製した。

容器1：ポリエチレン（厚さ0.6 mm）製、内径8.5 mm、高さ150 mmの有底中空円筒体

蓋体2：ポリエチレン（厚さ0.6 mm）製、内径10 mm、長さ53 mmの有底中空円筒体

第一の袋状部材4：ガラス（厚さ0.5 mm）製、内径7.5 mm、長さ40 mmの有底中空円筒体

仕切り部材5：ポリエチレン（厚さ1 mm）製、直径6 mmの円盤状体

棒状体6 a：ポリエチレン製、直径2 mm、長さ135 mm

菌採取端6 b：脱脂綿製、直径5 mm、長さ15 mmの「綿棒」先端状

ディスク部材7：厚さ1 mm、直径6 mmの濾紙

（下記（表1）に示す抗生物質を、培地と一体化した際に、アズトレオナム（Aztreonam）10 μ g/ml、ポリミキシンB 8 μ g/ml、フルコナゾール5 μ g/mlの濃度となる量で、容器1の底と菌採取端6 bとの間に配置した、ディスク部材7に含浸させた。）

培地3：下記（表1）に示す組成（抗生物質を除く）を有する培地

表1

A) 黄色ブドウ球菌検出用スクリーニング培地 (マンニット食塩培地変法)

Myosate Peptone	2.5g		
Polypeptone Peptone	10.0g		
Yeast Extract	2.5g	DISK: Aztreonam	1~15 μ g/ml
D-Mannitol	10.0g	Polymyxin B	1~15 μ g/ml
Lithium Chloride	5.0g	Fluconazole	1~10 μ g/ml
Sodium Chloride	40.0g		
Phenolred	25 mg		
Distilled Water	1000ml		

(pH 7.5) Sterilize by autoclaving at 115 °C for 15 min.

二次的試験・・・フォスファターゼ検出用DISK

上記構成を有する黄色ブドウ球菌用の検出器具を製造した後、1~30℃で、 γ 線を1分間照射することにより滅菌した。該滅菌後の器具は、遮光のためのアルミニウムを蒸着したポリエチレンフィルム (厚さ100 μ m) からなる袋内に、使用の直前まで保存しておいた。

実施例2

(腸炎ビブリオ検出器具の作製)

図5を参照して、培地3の組成、および抗生物質を下記(表2)に示すように変更した以外は、実施例1と同様にして腸炎ビブリオ用の菌検出器具を作製、滅菌、および保存した。この際、(表2)に示す抗生物質を、培地と一体化した際に、ポリミキシンB 10 μ g/ml、フルコナゾール5 μ g/ml、およびポタシウム・テルライト5 μ g/mlの濃度となる量で、ディスク部材7に含浸させた。

表2

B) 腸炎Vibrio検出用スクリーニング培地 (食塩ポリミキシン培地変法)

Polypeptone Peptone	10.0g	
Yeast Extract	5.0g	DISK: Polymyxin B 1 ~15 μ g/ml
Sodium Chloride	20.0g	Fluconazole 1 ~10 μ g/ml
Saccharose	15g	Potassium Tellurite
Sodium dodecyl sulfate	1.0ml	1 ~10 μ g/ml
Bromthymolblue	40.0mg	
Cresol red	40.0mg	
Distilled Water	1000ml	

(pH 7.2) Sterilize by autoclaving at 115 °C for 15 min.

二次的試験・・・チトクロームオキシターゼ検出用DISK

実施例3

(サルモネラ検出器具の作製)

図5を参照して、培地3の組成、および抗生物質を下記(表3)に示すように変更した以外は、実施例1と同様にしてサルモネラ用の検出器具を作製、滅菌、および保存した。この際、(表3)に示す抗生物質を、培地と一体化した際に、フルコナゾール5 μ g/mlの濃度となる量で、ディスク部材7に含浸させた。

- 表 3

C) Salmonella検出用スクリーニング培地（キシロースーリジン培地変法）

Yeast Extract	5.0g	
Sodium Chloride	5.0g	
Saccharose	5.0g	DISK: Fluconazole 1~10 µg/ml
Lactose	5.0g	
Xylose	4.0g	
Lysine	10.0g	
Sodium dodecyl sulfate	1.0ml	
0.2% Bromocresol purple	12.0ml	
Ammonium Iron Citrate	0.5g	
Sodium Thiosulfate Pentahydrate	0.2g	
Distilled water	1000ml	

(pH 6.8) Sterilize by autoclaving at 115 °C for 15 min.

実施例 4

(黄色ブドウ球菌検出用培地の選択性の確認)

実施例 1 で用いた黄色ブドウ球菌検出用培地の選択性を、下記のようにして確認した。

実施例 1 で用いた黄色ブドウ球菌検出用培地 3 の 1.5 ml に対して、下記表 4 に示す 22 種類の細菌を、培養の当初に約 10^6 個/ml の濃度となるように分散させ、大気中 37 °C で、それぞれ 24 時間、48 時間および 72 時間培養した後の（上記培地に含有される）pH 指示薬フェノール・レッドの変色の有無により、各種の細菌の繁殖の有無を判断した。上記培養後の培地の色調が「黄色」の場合を「陽性+」（細菌の繁殖あり）とし、該培地の色調が「赤色」の場合を「陰性-」（細菌の繁殖なし）とした。

第 4 表

A) Modified Mannitol Salt Base Medium (GRAM-POSITIVE COCCI & GRAM-NEGATIVE COCCI)

Gram Positive/Antibiotics		S. aureus 209P	S. aureus TEN	S. aureus 003	S. agal- actiae	S. pyo- genes	S. epider- midis 2	S. epider- midis 5	S. sapro- phyticus	S. haemo- lyticus	E. faeca- lis 18	E. faeca- lis 7862
Aztreonam + Polymyxin B + Fluconazole	10 μ g/ml	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-
	8 μ g/ml	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-
	5 μ g/ml	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+
Gram Negative/Antibiotics		Salmo- nella	Serratia	Enter- obacter	Shigella	Escher- ichia	Klebsi- ella	Proteus 1	Proteus 19	Proteus 20	Pseudo- monas 1	Pseudo- monas 2
Aztreonam + Polymyxin B + Fluconazole	10 μ g/ml	...	...	...	-	-	-	-	-	-	-	-
	8 μ g/ml	...	...	...	-	-	-	-	-	-	-	-
	5 μ g/ml	-	...	-	-	-	-	-	-	-	-	-

陽性 (培地→黄色) 陰性 (培地色→赤色)

得られた結果を表4に示す。表4の結果から明らかなように、本例の黄色ブドウ球菌検出用培地を用いた場合には、グラム陰性菌および真菌の繁殖は、該培地3およびディスク7に吸着された抗生物質および抗カビ剤により効果的に抑制されることが確認された。

上記で試験した各細菌のうち、*S. epidermidis* は、培地3中に含まれるマンニトールを分解しないため、培地の色調は変化しなかった。

本発明者の実験によれば、この培地で陽性を示す菌種としては、黄色ブドウ球菌以外に、Coagulase negative Staphylococcus (CNS)、*E. faecalis*、*E. faecium* 等があることが判明したが、これらの細菌は、フォスファターゼまたはコアグララーゼ試験（文献名：衛生検査指針、ブドウ球菌検査指針）により、黄色ブドウ球菌と区別することが可能であった。

フォスファターゼ試験は、フォスファターゼ検出用ディスク（濾紙に、4-メチルウンベリフェリルリン酸を吸着させたもの）を用いて上記培地により培養し、その後4-メチルウンベリフェロンの蛍光を紫外線（366nm）照射することにより、その存在の確認が可能であった。

実施例5

（腸炎ビブリオ検出用培地の選択性の確認）

実施例2で用いた腸炎ビブリオ検出用培地の選択性を、下記のようにして確認した。

実施例2で用いた腸炎ビブリオ検出用培地3の1.5mlに対して、下記表5に示す22種類の細菌を、培養の当初に約 10^6 個/mlの濃度となるように分散させ、大気中37℃で、それぞれ24時間、48時間および72時間培養した後の（上記培地に含有される）pH指示薬ブロムチモール・ブルーおよびクレゾール・レッドの変色の有無により、各種の細菌の繁殖の有無を判断した。上記培養後の培地の色調が「黄色」の場合を「陽性+」（細菌の繁殖あり）とし、該培地の色調が「緑色」の場合を「陰性-」（細菌の繁殖なし）とした。

第 5 表

B) Modified Polymyxin Salt Base Medium. (GRAM-POSITIVE COCCI & GRAM-NEGATIVE COCCI)

Gram Positive/Antibiotics		S. aureus 209P	S. aureus TEN	S. aureus 003	S. agal- actiae	S. pyo- genes	S. epider- midis 2	S. epider- midis 5	S. sapro- phyticus	S. haemo- lyticus	E. faeca- lis 18	E. faeca- lis 7862
Gram Positive/Antibiotics	Polymyxin B 10 μ g/ml +	24hr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Fluconazole 5 μ g/ml +	48hr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Potassium Tellurite	72hr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gram Negative/Antibiotics		Salmo- nella	Serratia	Enterobacter	Shigella	Escher- ichia	Klebsi- ella	Proteus 1	Proteus 19	Proteus 20	Pseudo- monas 1	Pseudo- monas 2
Gram Negative/Antibiotics	Polymyxin B 10 μ g/ml +	24hr	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
	Fluconazole 5 μ g/ml +	48hr	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-
	Potassium Tellurite	72hr	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-

陽性 (培地→黄色) 陰性 (培地色→綠色)

得られた結果を表5に示す。表5の結果から明らかなように、本例の腸炎ビブリオ検出用培地を用いた場合には、グラム陽性菌の繁殖は抗生物質により抑制され、また、グラム陰性菌および真菌の大部分の繁殖は、ディスク7に吸着された抗生物質（ポリミキシンB、フルコナゾール、およびポタシウム・テルライト）により効果的に抑制されることが確認された。

本発明者の実験によれば、この培地で陽性を示す菌種としては、腸炎ビブリオ以外に、*V. cholerae*、*V. vulnificus*、*Proteus* spp 等があることが判明したが、これらの細菌は、オキシダーゼ試験（チトクローム・オキシダーゼ反応、文献名：Kovacs、Nature(London)、178、703、1956年）により、腸炎ビブリオと区別することが可能であった。

実施例6

（サルモネラ検出用培地の選択性の確認）

実施例3で用いたサルモネラ検出用培地の選択性を、下記のようにして確認した。実施例3で用いたサルモネラ検出用培地3の1.5mlに対して、下記表6に示す22種類の細菌を、培養の当初に約 10^6 個/mlの濃度となるように分散させ、大気中37℃で、それぞれ24時間、48時間および72時間培養した後の（上記培地に含有される）pH指示薬プロモクレゾール・パープルの変色の有無により、各種の細菌の繁殖の有無を判断した。上記培養後の培地の色調が「黒色」の場合を「陽性+」（細菌の繁殖あり）とし、該培地の色調が「紫色または黄色」の場合を「陰性-」（細菌の繁殖なし）とした。サルモネラを始めとする硫化水素産生菌は、培地中に含まれるチオ硫酸塩をクエン酸鉄アンモニウムとにより、該培地を黒色に変化させた。

第 6 表

C) Modified Xylose-Lysine Base Medium. (GRAM-POSITIVE COCCI & GRAM-NEGATIVE COCCI)

Gram Positive/Antibiotics	S. aureus 209P	S. aureus TEN	S. aureus 003	S. agal- actiae	S. pyo- genes	S. epider- midis 2	S. epider- midis 5	S. sapro- phyticus	S. haemo- lyticus	E. faeca- lis 18	E. faeca- lis 7862
	24hr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fluconazole 5 μ g/ml	48hr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	72hr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gram Negative/Antibiotics	Salmo- nella	Serratia	Enterobacter	Shigella	Escher- ichia	Klebsi- ella	Proteus	Proteus	Proteus	Pseudo- monas 1	Pseudo- monas 2
	24hr	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fluconazole 5 μ g/ml	48hr	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	72hr	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-

陽性 (培地→黄色) 陰性 (培地色→紫色または黄色)

Salmonella培地色 (黒色)

Escherichia coli
Citrobacter spp
Klebsiella spp
Enterobacter spp
Proteus spp

培地色 (黄色)

Shigella spp
Serratia spp
Pseudomonas spp

培地色 (紫色)

得られた結果を表6に示す。表6の結果から明らかなように、本例のサルモネラ検出用培地を用いた場合には、グラム陽性菌の繁殖は抗生物質により抑制され、また、真菌の繁殖は、ディスク7に吸着された抗生物質（フルコナゾール）により効果的に抑制されることが確認された。本発明者の実験によれば、いくつかのグラム陰性菌が、この培地の色調を紫色から黄色に変化させることが判明した。このような色調の変化の例を以下に示す。

*黒色に変化させるもの：サルモネラ

*黄色に変化させるもの：Escherichia coli、Citrobacter spp、Klebsiella spp、Enterobacter spp、Proteus spp

*紫色に変化させるもの：Shigalla spp、Serratia spp、Pseudomonas spp

実施例7

（黄色ブドウ球菌検出器具の使用）

実施例1で得た黄色ブドウ球菌用検出器具の袋を破って該器具を取り出した後、蓋体2（および菌採取部6）を容器から取り出し（図2（a））、菌採取端6bを調理器具（まな板等）の表面に数回擦り付けた（図2（b））。

次いで、上記の蓋体2を、再び容器に挿入し菌採取端6bを容器内部の所定の位置に保持した後、図示しない圧迫器具（幅広クリップ状の「割り具」）を用いて、第一の袋状部材4を蓋体2の外側から強く圧迫して破壊し、該第一の袋状部材4に内包されていた培地3を容器内部に落下させた。これにより、菌採取部6の菌採取端6bは該培地3中に浸漬される（この際、第一の袋状部材4の破片等の培地以外の材料は、仕切り部材5により容器内への落下を阻止された）。

このように菌採取部6の菌採取端6bが培地3中に浸漬された状態で、37℃で16～24時間インキュベートしたところ、ある調理器具（まな板）では、培地3の色調が赤色から黄色に変化した。すなわち、黄色ブドウ球菌の存在が確認された。このように黄色ブドウ球菌の存在が確認された調理器具を、0.2～0.5%クロロヘキシジン（商品名「ヒビデン」、住友製薬社製）水溶液を浸したガーゼにより数回漬拭した後、水道水で10分間水洗した。このように、逆性セッケン清拭、水洗後の調理器具（まな板）について、上記と同様に黄色ブドウ球

菌検出試験を行ったが、培地3の色調は黄色のままで変化せず、黄色ブドウ球菌は検出されなかった。すなわち、上記の消毒処理により、黄色ブドウ球菌が効果的に除去されることが確認された。

(使用済み黄色ブドウ球菌検出器具の消毒・殺菌処理)

図示しない圧迫器具(幅広クリップ状の「割り具」)を用いて、第二の袋状部材8を蓋体2の外側から強く圧迫して破壊し、該第二の袋状部材8に内包されていた消毒・殺菌剤9〔5～10%クロロヘキシジン(商品名「ヒビデン」、住友製薬社製)水溶液〕を容器内部に落下させた。これにより、培地を含めて容器1の中は消毒・殺菌処理が蓋体2を容器1から取り外すことなく実施できる。

実施例8

(腸炎ビブリオおよびサルモネラ検出器具の使用)

実施例2および3でそれぞれ得られた腸炎ビブリオ検出器具およびサルモネラ検出器具を用いた以外は、実施例7と同様にして調理器具における食中毒菌の存在の確認を行ったところ、ある調理器具について腸炎ビブリオないしサルモネラの存在が確認された。

これらの調理器具を、実施例7と同様にして逆性セッケン清拭、水洗を行ったところ、該消毒処理後には、腸炎ビブリオないしサルモネラの存在は確認されなかった。すなわち、上記の消毒処理により、腸炎ビブリオないしサルモネラが効果的に除去されることが確認された。

(使用済み腸炎ビブリオおよびサルモネラ検出器具の消毒・殺菌処理)

図示しない圧迫器具(幅広クリップ状の「割り具」)を用いて、第二の袋状部材8を蓋体2の外側から強く圧迫して破壊し、該第二の袋状部材8に内包されていた消毒・殺菌剤9〔5～10%クロロヘキシジン(商品名「ヒビデン」、住友製薬社製)水溶液〕を容器内部に落下させた。これにより、培地を含めて容器1の中は消毒・殺菌処理が蓋体2を容器1から取り外すことなく実施できる。

実施例 9

図12～図16に示されたような基本構造を有する検出器具をそれぞれ用い、実施例1～3でそれぞれ記載の黄色ブドウ球菌検出用スクリーニング培地、腸炎ビブリオ検出用スクリーニング培地、及びサルモネラ検出用スクリーニング培地、並びに抗生物質をそれぞれ組み合わせて用いた以外は、実施例7と同様にして調理器具における食中毒菌の存在の確認を行ったところ、ある調理器具についてそれぞれ黄色ブドウ球菌、腸炎ビブリオないしサルモネラの存在が確認された。

これらの調理器具を、実施例7と同様にして逆性セッケン清拭、水洗を行ったところ、該消毒処理後には、黄色ブドウ球菌、腸炎ビブリオないしサルモネラの存在は確認されなかった。すなわち、上記の消毒処理により、黄色ブドウ球菌、腸炎ビブリオないしサルモネラが効果的に除去されることが確認された。

(使用済み検出器具の消毒・殺菌処理)

図12～図16に示されたような装置の破碎機構（例えば、49、461、56、53；73、74、77；93；113）を用いて、第二の袋状部材48、64（又は68）、88、108を蓋体42、62、82、102の外側から強く圧迫して破壊し、該第二の袋状部材48、64（又は68）、88、108に内包されていた消毒・殺菌剤9〔5～10％クロロヘキシジン（商品名「ヒビデン」、住友製薬社製）水溶液〕を容器内部に落下させた。これにより、培地を含めて容器41、61、81、101の中はその消毒・殺菌処理が蓋体42、62、82、102を容器41、61、81、101から取り外すことなく実施できる。

実施例 10

図17～図33を参照して、下記の材料を用いて、下記の寸法を有する菌検出器具を作製した。図17及び図18で示される菌検出器具の容器241の底部端からキャップ部材249の頂部端まで（菌検出器具の長さ）は、おおよそ201 mmのサイズである。

容器241：ポリプロピレン（厚さ：おおよそ1.0 mm）製、内径：おおよそ9.0 mm、高さ：おおよそ73 mmの有底中空円筒体（開口部近くの外側に

は係合用にネジ山が設けられている)。

棒状体部246:ポリプロピレン製、直径:おおよそ2.5mm、長さ:おおよそ77mm。

菌採取端246b:脱脂綿製、最大直径:おおよそ5mm、長さ:おおよそ15mmの「綿棒」先端状。

蓋体243:ポリプロピレン(厚さ:おおよそ1.0mm)製、内径:おおよそ13.0mm、長さ:おおよそ96mm、そして係合部259の長さ:おおよそ10mmの中空円筒体で、係合部259の内側は螺刻されている。

仕切り部材296:ポリプロピレン(厚さ:おおよそ1mm)製、直径:おおよそ13mmの円盤状体で、その中央には菌採取部の棒状部材取り付け口が設けられている。また扇形の貫通孔が4個設けられている。仕切り部材296は、蓋体243の係合部259の部分に嵌合せしめられる。

蓋体247:ポリプロピレン(厚さ:おおよそ1mm)製、内径:おおよそ10mm、長さ:おおよそ57mm、そしてヘッド部(キャップ部材249との係合部)245の長さ:おおよそ13mmで、その内側は螺刻されている。蓋体243の内側に設けられ突起状の棧(あるいは畝)297(該突起部は突起252に連なっている)と蓋体247の外側に設けられた溝299とは互いに嵌合するようにされており、蓋体247が蓋体243の中に挿入された時ピッタリ合うようにされている。

仕切り部材235:ポリプロピレン(厚さ:おおよそ1mm)製、直径:おおよそ9mmで、仕切り部材235は、蓋体247の容器241側端部に嵌合せしめられる。また扇形の貫通孔が4個設けられている。

キャップ部材249:ポリプロピレン(厚さ:おおよそ1mm)製、容器241と反対側の頂部側561の直径:おおよそ15mm、そこにはキャップ部材用蓋体562が嵌合せしめられ、そしてねじ山部257の直径:おおよそ11~13mm、また容器241側の底部256の直径:おおよそ9mmである。該ねじ山部257は蓋体247の該係合部245の内側に設けられたネジ切りと螺合する。該係合部245の内側に設けられたネジ切り部は、キャップ部材249を回転して押し込むことが可能なように十分な幅(蓋体247の軸方向の長さ)を有

している。

第一の袋状部材244：内径：おおよそ9mm、長さ：おおよそ43mmのガラス（厚さ：おおよそ0.5mm）製アンプルで、例えば、下記実施例11に示された改良培地をそれぞれ収容し、それに対応してブドウ球菌検出器具、腸炎ビブリオ検出器具、サルモネラ検出器具、大腸菌検出器具とした。

第二の袋状部材248：ガラス（厚さ：おおよそ0.5mm）製、内径：おおよそ9mm、長さ：おおよそ36mmのアンプルで、実施例7に示されているような消毒・殺菌剤を収容している

上記構成を有する菌検出器具を製造した後、エチレンオキサイドを用いた滅菌装置を使用して滅菌した。滅菌は、例えば、30℃～50℃の温度で、約20%のエチレンオキサイドと約80%の炭酸ガスからなる気体中、約0.3kg/m²の圧力の下で、約5時間行った。該滅菌後の器具は、遮光のためのアルミニウムを蒸着したポリエチレンフィルム（厚さ100μm）からなる袋内に、使用の直前まで保存しておいた。なお、培地としては下記実施例11を上記のアンプル（第一の袋状部材244）に封入して用いた。

同様にして図34～図51を参照して、菌検出器具を作製した。

実施例11

（改良培地を用いた菌検出用器具の作製）

（i）アンプルから取り出すには液体培地が適しているので、こうした観点からの培地改良を目指した。また菌検出感度の改善、さらには菌に対する特異性の改善、そして菌検出器具の操作性改善のため抗生物質を保持せしめるディスク部材7を用いなくて済むように培地組成の検討を行い、培地に選択性を付与するように改良を行った。同時にpH指示薬についてもこうした改善を目指し検討を行った。その結果、次なる組成の培地が優れていることが判明した。

(a) サルモネラ菌用改良培地

(1) 組成

基礎培地

トリプトン (Difco 社)	5 g
イーストエキストラクト (Difco 社)	3 g
L (+) - リジン-塩酸塩 (和光純薬・特級)	10 g
ブドウ糖 (無水) (和光純薬・特級)	1 g
塩化ナトリウム (和光純薬・特級)	8 g
リン酸二水素一カリウム (和光純薬・特級)	1.6 g
チオ硫酸ナトリウム五水和物 (和光純薬・特級)	0.2 g
クエン酸鉄 (III) アンモニウム 褐色 (和光純薬・一級)	0.3 g
塩化マグネシウム六水和物 (和光純薬・特級)	20.3 g
ブロムクレゾールパープル (和光純薬・特級)	0.02 g
0.4% マラカイトグリーン溶液	30 ml
マラカイトグリーンしゅう酸塩 (和光純薬・特級)	0.4 g
(少量の純アルコールに 0.4 g のマラカイトグリーンを加え、乳鉢でよく研磨した後、精製水を加えて全量を 100 ml にする。)	

上記トリプトン、イーストエキストラクト及び亜テルル酸カリウムは、Merck 社より入手のものに置き換えることができる。

(2) 調製法

上記基礎培地の各成分を秤量し、精製水 1000 ml を加え、よく振り混ぜて均等な浮遊液とした後、0.4% マラカイトグリーン溶液 30 ml を加え、加温溶解する (100℃、20 分)。培地の pH は 5.3 ~ 5.7 に調整する。冷却後、0.2 μ のフィルターで濾過滅菌する。

(b) 腸炎ビブリオ用改良培地

(1) 組成

基礎培地

食塩ポリミキシンブロス (日水製薬)	33 g
D (一) - マンニトール (和光純薬・特級)	20 g
クエン酸ナトリウム二水和物 (和光純薬・特級)	8 g
チオ硫酸ナトリウム五水和物 (和光純薬・特級)	0.2 g
ブロムクレゾールパープル (和光純薬・特級)	0.02 g

(2) 調製法

上記基礎培地の各成分を秤量し、精製水1000mlを加え、よく振り混ぜて均等な浮遊液とし、培地のpHを7.0～7.4に調整した後、121℃、15分滅菌する。滅菌後は直ちに急冷する。

(c) 大腸菌群用改良培地

(1) 組成

基礎培地

ラウリルトリプトースブロス (Difco 社)	35.6 g
ラクトース一水和物 (和光純薬・特級)	5 g
ブロムチモールブルー (和光純薬・特級)	0.04 g

(2) 調製法

上記基礎培地の各成分を秤量し、精製水1000mlを加え、よく振り混ぜて均等な浮遊液とし、培地のpHを6.75～7.25に調整した後、121℃、15分滅菌する。滅菌後は直ちに急冷する。

(d) ブドウ球菌用改良培地

(1) 組成

基礎培地

トリプトン (Difco 社)	10 g
イーストエキストラクト (Difco 社)	5 g
D (ー) -マンニトール (和光純薬・特級)	10 g
リン酸一水素二カリウム (和光純薬・特級)	5 g
塩化リチウム一水和物 (和光純薬)	5.5 g
グリシン (和光純薬・特級)	16.5 g
ピルビン酸ナトリウム (和光純薬・特級)	12 g
フェノールレッド (和光純薬・特級)	0.025 g
1%亜テルル酸カリウム水溶液	15 ml
亜テルル酸カリウム (和光純薬)	1 g

(1 gの亜テルル酸カリウムに精製水100 mlを加え、溶解する。)

上記トリプトン、イーストエキストラクト及び亜テルル酸カリウムは、Merck社より入手のものに置き換えることができる。

(2) 調製法

上記基礎培地の各成分を秤量し、精製水1000 mlを加え、よく振り混ぜて均等な浮遊液とし、培地のpHを7.25~7.75に調整した後、121℃、15分滅菌する。50℃以下に冷めたら、1%亜テルル酸カリウム水溶液を15 ml加え、よく混和した後0.2 μmのフィルターで濾過滅菌する。

(i i) 各培地の菌検出感度及び菌に対する特異性の測定

各培地1.5 mlに対して、コントロール菌株、すなわちサルモネラ菌 (菌量: 10^9) ; 腸炎ビブリオ菌 (菌量: 10^9) ; 大腸菌群 (菌量: 10^9) 及びブドウ球菌 (菌量: 10^8) の細菌を、培養の当初に表8~11に示す菌量となるように分散させ、大気中37℃でそれぞれ24時間培養した。培養後の培地の色調の変化で、各種の細菌の繁殖の有無を判断した。なお、上記コントロール菌

株は、すべて臨床分離株であり、適当な同定キットを用いて同定された菌株で、大腸菌、サルモネラ菌並びにビブリオ菌についてはアピ 20 (API 20 E) (日本バイオメリュー・バイテック (株)) を用いて、そしてブドウ球菌についてはアピスタフ (API STAPH) (日本バイオメリュー・バイテック (株)) を用いて同定されたものである。アピ 20 (API 20 E) (日本バイオメリュー・バイテック (株)) では、大腸菌として *Escherichia coli* 1, *Escherichia coli* 2 が、サルモネラ菌として *Salmonella arizonae*, *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella paratyphi* A, *Salmonella* spp, *Salmonella typhi* が、ビブリオ菌として *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio hollisae*, *Vibrio metschnikovii*, *Vibrio mimicus*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus* が、35～37℃、24 時間または 48 時間培養条件下での陽性率表に例示されている。アピスタフ (API STAPH) (日本バイオメリュー・バイテック (株)) では、ブドウ球菌として *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus auriculans*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus caprae*, *Staphylococcus camosus*, *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus cohnii*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus hyicus*, *Staphylococcus lentus*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus schleiferi*, *Staphylococcus sciuri*, *Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus xylosus* が、35～37℃、18～24 時間培養条件下での陽性率表に例示されている。

第 7 表

(単位 : CFU/ml)

菌検出器具	感度	
	改良前	改良後
ブドウ球菌用キット	3.0×10^3	1.9×10^2
サルモネラ菌用キット	3.0×10^4	1.4×10^2
腸炎ビブリオ用キット	3.0×10^5	3.1×10^2
大腸菌群用キット	3.0×10^4	1.5×10^2

表7から改良培地ではすべての菌で感度の改善が達成できていることがわかる。特に腸炎ビブリオでは大幅な改善が達成できている。下記表8～11には各対象培地の判定結果を改良前培地と対比して、上記で示した組成の改良培地につきそれぞれ示してある。該表中、「フードスタンプ」とは、微生物検出用の器具の慣用名で、例えば、「ぺたんチェック」(商品名)〔栄研器材株式会社より入手可能〕、「DDチェッカー「生研」」(商品名)〔デンカ生研株式会社より入手可能〕、「食材チェック「ニッスイ」」(商品名)〔日水製薬株式会社より入手可能〕などが挙げられる。「サンコリ」は、サン化学株式会社より入手可能な Coli forms Detection Paper の商品名である。

第 8 表

ブドウ球菌用キット

希 釈	希釈率 10^x	-3	-4	-5	-6	-7	-8
	菌 量	10^5	10^4	10^3	10^2	10^1	10^0
改良前 培地	色調変化	(+)	(+)	(+)	(±)	(-)	(-)
	対象培地(コロニ-数)	多数	多数	多数	陰性	陰性	陰性
改良培地	色調変化	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)
	対象培地(コロニ-数)	多数	多数	多数	多数	陰性	陰性
フーデスランプ		多数	多数	多数	陰性	陰性	陰性
サンコリ		(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

第 9 表

サルモネラ菌用キット

希 釈	希釈率 10^x	-3	-4	-5	-6	-7	-8
	菌 量	10^6	10^5	10^4	10^3	10^2	10^1
改良前 培地	色調変化	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)
	対象培地(コロニ数)	多数	多数	多数	陰性	陰性	陰性
改良培地	色調変化	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)
	対象培地(コロニ数)	多数	多数	多数	多数	多数	陰性
フーdstスタンプ		多数	多数	多数	陰性	陰性	陰性
サンコリ		(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

腸炎ビブリオ用キット
第 10 表

希 釈	希釈率 10^x	-3	-4	-5	-6	-7	-8
	菌 量	10^6	10^5	10^4	10^3	10^2	10^1
改良前 培地	色調変化	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
	対象培地(コロニー数)	多数	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
改良培地	色調変化	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)
	対象培地(コロニー数)	多数	多数	多数	多数	多数	陰性
フードスタンプ		多数	多数	多数	陰性	陰性	陰性
サンコリ		(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

大腸菌群用キット 第 11 表

希 釈	希釈率 10^x	-3	-4	-5	-6	-7	-8
	菌 量	10^6	10^5	10^4	10^3	10^2	10^1
改良前 培地	色調変化	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)
	対象培地(コロニー数)	多数	多数	多数	陰性	陰性	陰性
改良培地	色調変化	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)
	対象培地(コロニー数)	多数	多数	多数	多数	少数	陰性
フーヅスタンプ		多数	多数	多数	陰性	陰性	陰性
サンコリ		(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

Staphylococcus aureus (MRSA), - *Staphylococcus aureus* (MSSA), *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Enterococcus* sp., *Bacillus* sp., *Salmonella typhimurium*, *Salmonella typhi*, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter diversus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Hafnia alvei*, *Morganella morganii*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio fluvialis*, *Vibrio vulnificus*, *Aeromonas* sp., *Plesiomonas shigelloides*, *Escherichia coli* (O-157 EHEC), *Escherichia coli* (O-55 EPEC), *Escherichia coli* (O-124 EIEC), *E. coli* (O-25 ETRC), *Pseudomonas* sp., *Acinetobacter* sp., *Flavobacterium* sp. などを用いてそれら菌の検出を行ってみたところ、良好な結果が得られた。陽性を示す菌種と培地の色の変化との関係を表1 2に示す。呈色性は良好で、その色は識別性に優れていることが認められた。

第 12 表

陽性を示す菌種と色の変化

菌検出器具	陽性を示す菌種	改良前		改良後	
		※陰性	陽性	※陰性	陽性
ブドウ球菌用 キット	黄色ブドウ球菌	ピンク色	(弱)オレンジ色 (強)黄色	赤色	黄色
	その他の菌	ピンク色	黄色	赤色	
サルモネラ菌用 キット	サルモネラ菌	紫色	黒紫色	青色	紫色
	シトロバクター属 エンテロバクター属	紫色	黄色	青色	紫色
	クレブシエラ属 プロテウス属 大腸菌群	紫色	黄色	青色	
	腸炎ビブリオ	青紫色	黄緑色	紫色	黄色
腸炎ビブリオ キット	エンテロコッカス属 セラチア属	青紫色	黄色	紫色	黄色
	クレブシエラ属 シトロバクター属	青紫色	黄色	紫色	
	大腸菌群	紫色	黄色	緑色	黄色
大腸菌群用 キット	その他の菌	紫色	黄色又は白色 (透明)	緑色	

その他の菌：上記の供試菌株を参照

※陰性：検査前と同色

上記実施例 11 (i) (c) 大腸菌群用改良培地において、ブロムチモールブルーに代えて、ブロムクレゾールパープルを用いたものは、食品や食材における菌の検出で、良好な結果が得られた。例えば、実施例 10 に従って（特には、図 34～図 51 を参照して）構成された菌検出器具（該大腸菌群用改良培地を含有）を使用して、乳製品飲料における菌の検出で、良好な結果が得られ、その呈色性は良好で、その色は識別性に優れていることが認められた。

実施例 12

図 35 に示された菌検出器具において、生菌数測定用培地を用いて、培養を行い、一定の時間培養後の培地の濁度を測定し、それにより培養前の生菌数を推測することが可能であるか否かを確認する。

(1) 生菌数測定用培地に既知濃度の菌液 (10^2 ～ 10^8 個) を加え、一定時間（それぞれ、3, 5, 6 時間） 37°C で培養した。

（生菌数測定用培地の組成）

培地 1 リットル中の組成

・肉エキス	3. 0 g
・カゼインペプトン	15. 0 g
・酵母エキス	5. 0 g
・ブドウ糖	1. 0 g

(2) 一定時間培養した培地溶液を生理食塩水で 2 倍に希釈した。該 2 倍に希釈された培養液の濁度を McFarland 濁度計（日本ビオメリユー・バイテック株式会社製 ATB1550）を用いて測定した。その結果を図 71 及び図 72 に示す。図 71 は、黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) について、図 72 は大腸菌 (*E. coli*) について示している。

本試験では、5～6 時間培養することにより、生菌数は 10^3 ～ 10^8 個の範囲で、菌数と濁度との間に比例関係があることが確認でき、本発明の装置を用いて培養前の生菌数を推測することが可能であることがわかる。

更に、適切な培養時間や濁度を選択することにより、培養前の生菌数を推定することが可能になる。また生菌数測定用培地の濃度も、適切な濁度の値を与える

ように選択することが可能である。

産業上の利用可能性

上述したように本発明によれば、簡便且つ手軽に所定の菌（特には病原菌、とりわけ食中毒原因菌）の検出および／又は同定をすることが可能な選択的菌検出器具が提供される。長期の保存性も期待でき、何時でも必要なときに直ぐさま使用することができ、その持ち運びが便利で容易な形態となっており、さらに簡便な操作で安全に食中毒菌など有害菌を検出・同定することが可能で、そしてその検査の後も、安全・確実であって猶かつ簡単に廃棄処理を行うことのできる、特に個人的・家庭的な使用にも適した選択的菌検出器具が提供される。

本発明の菌検出器具は個人的・家庭的な使用も極めて容易であるため、保健所等の専門家の関与によらない自主的な菌検出、およびこれに基づく食中毒の予防対策が可能となる。本発明の菌検出器具は、菌の培養後には、開栓などして一旦開放系にすることがないので、病原性菌を含んでいても容易にそれを廃棄する事が可能となった。また、一旦培養に使用した容器を開栓して菌を含む培養液に消毒液をピペットなどで加えて消毒処理を施すなどということは必要ないことから、煩雑な操作を省くことができ、危険を伴うことがなく、専門的な技術や熟練、さらに装置などが必要とされることがない。さらに本発明の菌検出器具では、消毒液を該培養用の容器とは別に何時も用意しておかなければならないということもないので、極めて携帯性に優れるとか、取り扱いの簡便性に優れている。

発明を実施するための最良の形態の項に詳細に記載されているが、本発明に関連した技術に精通した者であれば以下の請求の範囲の項に記載された発明を実施するためのいろいろな別のデザインや具体的な例を認識しうるであろう。

請 求 の 範 囲

1. (a) 検出すべき菌を培養するために使用される培地を菌培養の間保持するための容器、

(b) 菌採取部、

(c) 検出すべき菌を培養するために使用される培地を菌の培養時まで菌採取部と非接触的に収容することを可能にする手段、及び

(d) 培養後の培地を消毒する手段

を少なくとも有することを特徴とする菌検出器具。

2. 培養後の培地を消毒する手段(d)が、検出すべき菌の培養後まで消毒剤を菌と非接触的に収容することを可能にする手段を含むものであることを特徴とする請求項1記載の菌検出器具。

3. 菌培養後に菌培養に使用された培地と消毒剤とが、外力の作用により互いに一体的に接触しうるようにされたものであることを特徴とする請求項1又は2記載の菌検出器具。

4. 菌培養時に菌採取部(b)と検出すべき菌を培養するために使用される培地とが、外力の作用により互いに一体的に接触しうるようにされたものであることを特徴とする請求項1～3のいずれか一記載の菌検出器具。

5. (a) 一方の端に開口を有する中空容器；

(b) 該中空容器内に配置された菌採取部；

(c) 菌の培養時に該菌採取部と接触するように配置されてなり且つ菌の培養のための培地；及び

(d) 菌の培養後に菌培養培地と接触するように配置された消毒剤を含有することを特徴とする請求項1～4のいずれか一記載の菌検出器具。

6. 抗生物質が、前記培地に添加されてなる請求項1～5のいずれか一記載の菌検出器具。

7. 抗生物質を包含してなり、該抗生物質及び培地は少なくともその一部が菌の培養時に外力の作用により互いに一体的に接触するものであり、且つ少な



くとも前記抗生物質と培地とが非接触的に収容容器に配置されていることを特徴とする請求項1～6のいずれか一記載の菌検出器具。

8. 菌を培地で培養して培地の変化を観察することにより菌を検知するための器具であって、

- (i) 菌採取部、
- (ii) 抗生物質、
- (iii) 培地、及び
- (iv) 消毒剤

を包含してなり、その(i)菌採取部、(ii)抗生物質、及び(iii)培地は少なくともその一部が菌の培養時に外力の作用により互いに一体的に接触するものであり、少なくとも前記(ii)抗生物質と前記(iii)培地とが非接触的に収容容器に配置されており、そして菌培養後は少なくとも培養された菌と(iv)消毒剤とが外力の作用により互いに一体的に接触するものであり、少なくとも前記(iv)消毒剤と前記(iii)培地とは非接触的に収容容器に配置されていることを特徴とする請求項1～7のいずれか一記載の菌検出器具。

9. 前記抗生物質が、(1)前記容器内に配置されてなるか、(2)前記菌採取部に付与されてなるか、あるいは(3)前記容器の内壁にコーティングされてなる請求項1～5及び7～8のいずれか一記載の菌検出器具。

10. 前記抗生物質が、前記中空容器内に配置された他の部材に付与されてなる請求項1～5及び7～9のいずれか一記載の菌検出器具。

11. 前記菌採取部が、少なくとも内側材と外側材とを含む多重構造を有してなり、該内側材に前記抗生物質が配置されてなる請求項1～5及び7～9のいずれか一記載の菌検出器具。

12. 前記培地が、菌の増殖に起因する変化に基づいて色調を変化させる物質を含有してなる請求項1～11のいずれか一記載の菌検出器具。

13. 該容器が密閉用蓋体を有するものであり、該蓋体内に前記培地が袋状部材に内包されて配置されている請求項1～12のいずれか一記載の菌検出器具。

14. 前記袋状部材と中空容器との間に、穴あき部材が配置されている請



求項 1 3 記載の菌検出器具。

1 5. 前記穴あき部材の下方に、前記菌採取部を伝う培地の中空容器中への落下を促進するガイド部材が配置されている請求項 1 4 記載の菌検出器具。

1 6. 病原性大腸菌、黄色ブドウ球菌、腸炎ビブリオ、およびサルモネラ菌からなる群から選ばれる少なくとも 1 種の菌に対する培養選択性を有する請求項 1 ～ 1 5 のいずれか一記載の菌検出器具。

1 7. 密閉下に培養に使用した培地の消毒処理を行うことが可能な構造であることを特徴とする請求項 1 ～ 1 6 のいずれか一記載の菌検出器具。

1 8. 菌採取部による菌採取処理後は、密閉下に (1) 容器内への培地の添加、(2) 培養処理、(3) 菌体の目視検出及び (4) 培養に使用した培地の消毒処理を少なくとも行うことが可能な構造であることを特徴とする請求項 1 ～ 1 7 のいずれか一記載の菌検出器具。

1 9. 蓋体は、

(a) 第一の袋状部材を収容する第一の区画を構成する第一の蓋体構成部材と、

(b) 第二の袋状部材を収容する第二の区画を構成する第二の蓋体構成部材と、そして

(c) 該第二の蓋体構成部材の一端であって、該第一の蓋体構成部材との嵌合側と反対の側にあり且つ回転可能に螺合したキャップ部材とから構成され、

第一の蓋体構成部材並びに第二の蓋体構成部材の、培地を収容して菌の培養を行うための空間を有する容器側のそれぞれの端部あるいはその近傍には、各該袋状部材を保持するための、仕切り部が形成されているか又は仕切り部材が配置され、

該第一の蓋体構成部材は該第二の蓋体構成部材の一端と摺動可能に嵌合し、該第二の蓋体構成部材を外力により該第一の蓋体構成部材側に摺動せしめて、該第一の袋状部材を破壊してその内容物たる培地を出すことができ、

該キャップ部材はそれを外力により回転せしめて該第二の蓋体構成部材側に押し込み、該第二の袋状部材を破壊してその内容物たる消毒剤を出すことができ



該仕切り部あるいは該仕切り部材には、培地及び消毒剤の流通が可能なように貫通孔が設けてあることを特徴とする菌検出器具。

20. (a) サルモネラ菌用培地の組成として、培地1, 000mlあたり、実質的にトリプトン、適量、例えば、3～7g；酵母エキス、適量、例えば、1～6g；リジン、適量、例えば、5～15g；ブドウ糖、適量、例えば、0.5～2g；塩化ナトリウム、適量、例えば、7～9g；リン酸二水素一カリウム、適量、例えば、1.0～2.0g；チオ硫酸ナトリウム、適量、例えば、0.1～0.3g；クエン酸鉄アンモニウム、適量、例えば、0.2～0.4g；塩化マグネシウム、適量、例えば、15～25g；0.4%マラカイトグリーン液、適量、例えば、27～33ml及び；ブロムクレゾールパープル、適量、例えば、0.01～0.03g（培地のpHおよそ5.3～5.7）を含有するもの

(b) 腸炎ビブリオ用培地の組成として、培地1, 000mlあたり、実質的に食塩ポリミキシンブロス、適量、例えば、25～40g（食塩ポリミキシンブロスは、酵母エキス、適量；ペプトン、適量；塩化ナトリウム、適量；及びポリミキシンB、適量を含有する）；マンニット、適量、例えば、15～25g；クエン酸ナトリウム、適量、例えば、5～10g；チオ硫酸ナトリウム、適量、例えば、0.1～0.3g及び；ブロムクレゾールパープル、適量、例えば、0.01～0.03g（培地のpHおよそ7.0～7.4）を含有するもの

(c) 大腸菌群用培地の組成として、培地1, 000mlあたり、実質的にラウリル硫酸ブロス、適量、例えば、26～43g（ラウリル硫酸ブロスは、トリプトース、適量；ラクトース、適量；リン酸二水素一カリウム、適量；リン酸一水素二カリウム、適量；塩化ナトリウム、適量；ラウリル硫酸ナトリウム、適量を含有する）；ラクトース、適量、例えば、3～8g及び；ブロムチモールブルーあるいはブロムクレゾールパープル、適量、例えば、0.03～0.05g（培地のpHおよそ6.75～7.25）を含有するもの、及び

(d) ブドウ球菌用培地の組成として、培地1, 000mlあたり、実質的にトリプトン、適量、例えば、5～15g；酵母エキス、適量、例えば、



2～8 g ; マンニット, 適量, 例えば, 5～15 g ; リン酸一水素二カリウム, 適量, 例えば, 2～8 g ; 塩化リチウム, 適量, 例えば, 5～6 g ; グリシン, 適量, 例えば, 12～20 g ; ピルビン酸ナトリウム, 適量, 例えば, 10～14 g ; 1%亜テルル酸カリウム水溶液, 適量, 例えば, 12～18 ml ; フェノールレッド, 適量, 例えば, 0.02～0.03 g (培地のpHおよそ7.25～7.75) を含有するものからなる群から選ばれた培地を使用していることを特徴とする請求項1～19のいずれか一記載の菌検出器具。

21. 菌を培地で培養して培地の変化を観察することにより菌を検知するための器具であって、

(i) 菌採取部、

(i i) 培地、及び

(i i i) 消毒剤

を包含してなり、その(i)菌採取部、及び(i i)培地は少なくともその一部が菌の培養時に外力の作用により互いに一体的に接触するものであり、少なくとも前記(i)菌採取部と前記(i i)培地とが非接触的に収容容器に配置されており、そして菌培養後は少なくとも培養された菌と(i i i)消毒剤とが外力の作用により互いに一体的に接触するものであり、少なくとも前記(i i i)消毒剤と前記(i i)培地とは非接触的に収容容器に配置されていることを特徴とする請求項1～5のいずれか一記載の菌検出器具。

22. 該容器が封止用蓋体を有するものであり、該蓋体内に前記培地が袋状部材に内包されて配置されていることを特徴とする請求項1～21のいずれか一記載の菌検出器具。

23. 該容器が封止用蓋体を有するものであり、該蓋体内に前記消毒剤が袋状部材に内包されて配置されていることを特徴とする請求項1～22のいずれか一記載の菌検出器具。

24. 該蓋体が、少なくとも

(a) 培地を内包する第一の袋状部材と

(b) 消毒剤を内包する第二の袋状部材と

を互いに独立して保持することを可能にする構造を有するものであることを特徴



とする請求項1～23のいずれか一記載の菌検出器具。

25. 該蓋体が、少なくとも

(a) 第一の袋状部材を保持する第一の蓋体構成部材と

(b) 第二の袋状部材を保持する第二の蓋体構成部材と

を有するものであることを特徴とする請求項1～24のいずれか一記載の菌検出器具。

26. 使用前、第二の蓋体構成部材が移動して第一の袋状部材を破壊することがないように、第一の蓋体構成部材と第二の蓋体構成部材とが、保護係合手段を有することを特徴とする請求項1～25のいずれか一記載の菌検出器具。

27. 第二の蓋体構成部材に、キャップ部材を備え、使用前、該キャップ部材が移動して第二の袋状部材を破壊することがないように、該キャップ部材と第二の蓋体構成部材とが、保護係合手段を有することを特徴とする請求項1～26のいずれか一記載の菌検出器具。

28. 保護係合手段が、ストッパーとガイドからなるものであることを特徴とする請求項26又は27の記載の菌検出器具。

29. 請求項1～19及び21～28のいずれか一記載の菌検出器具を用いて、検体中の生菌数を定量測定する方法。



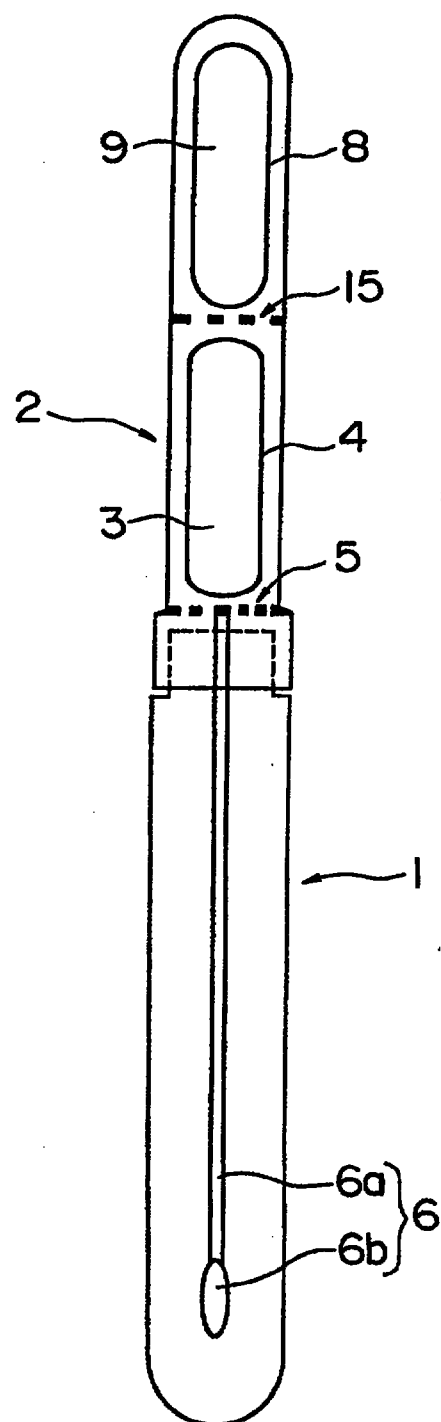


FIG. 1

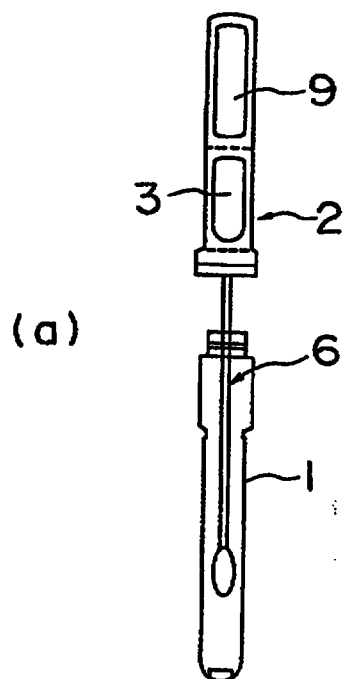
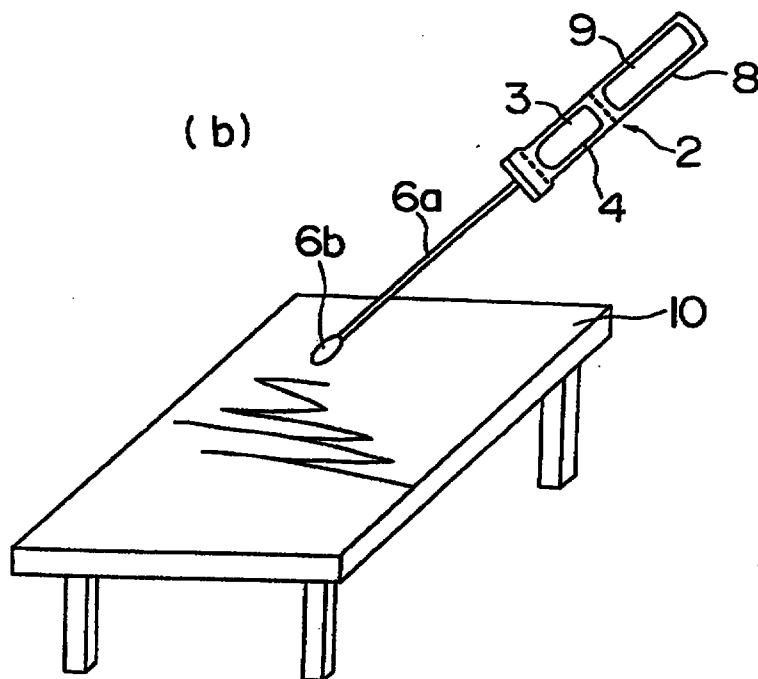


FIG. 2



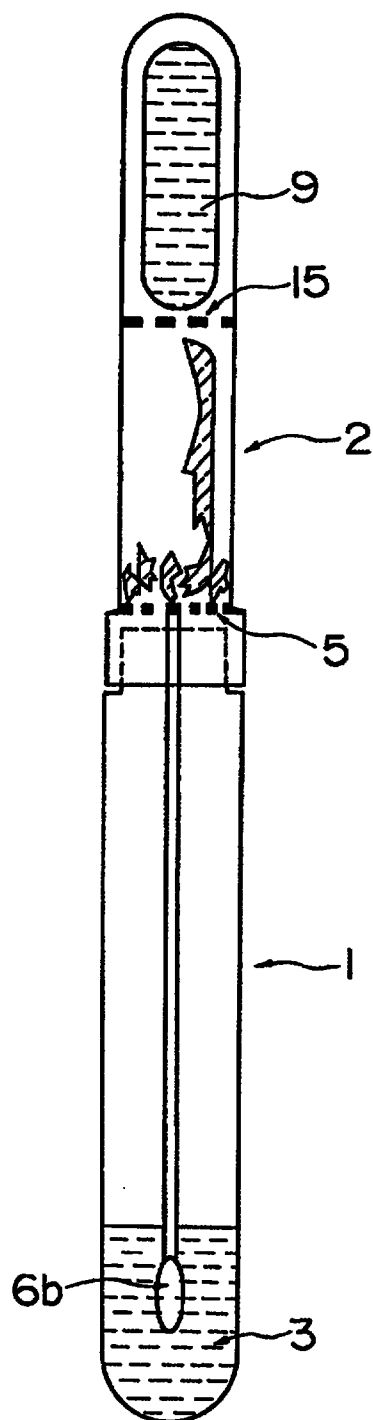


FIG. 3

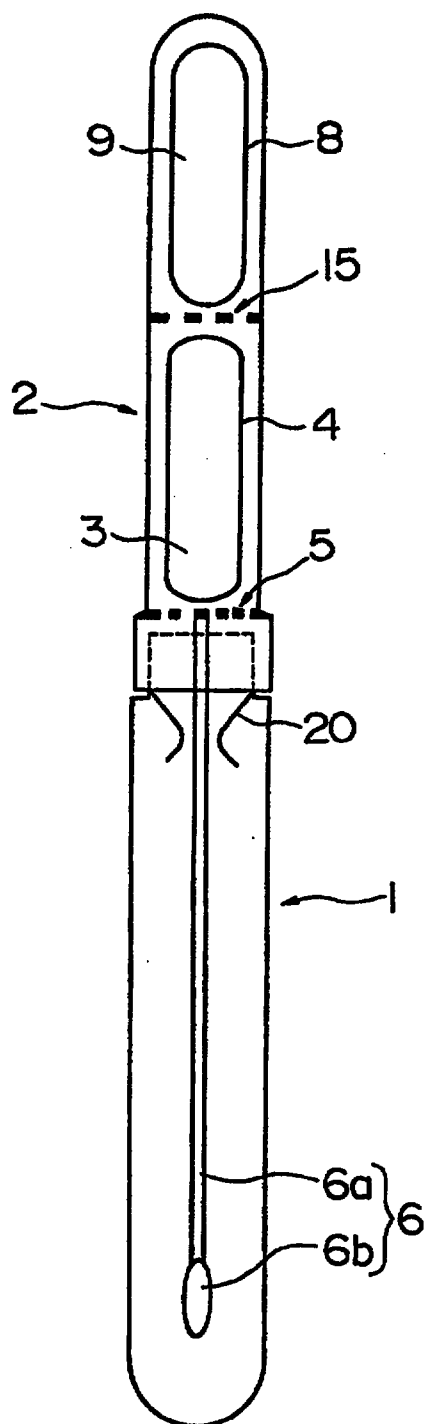


FIG. 4

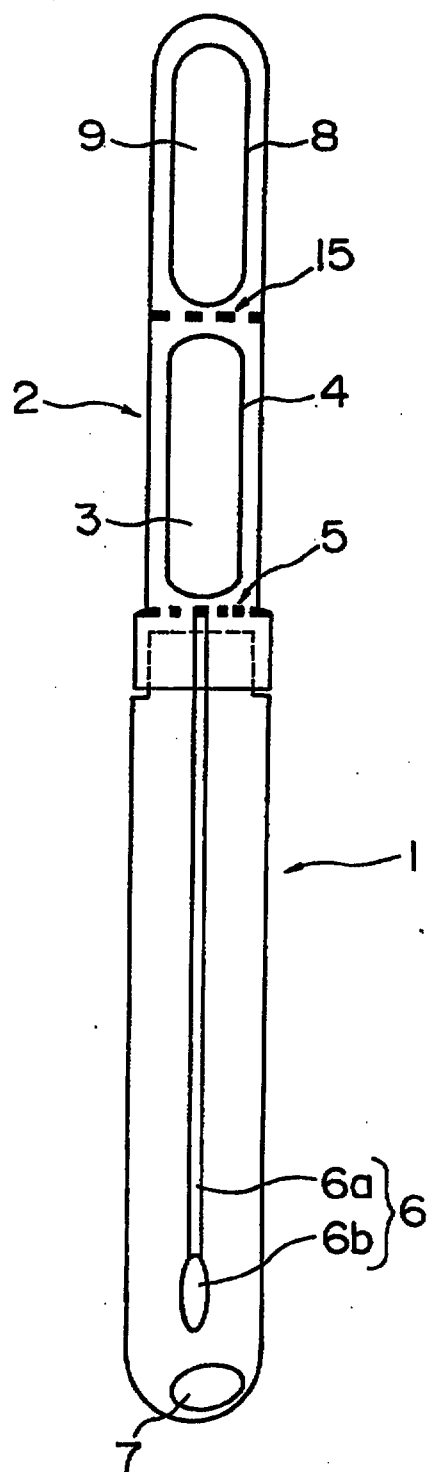


FIG. 5

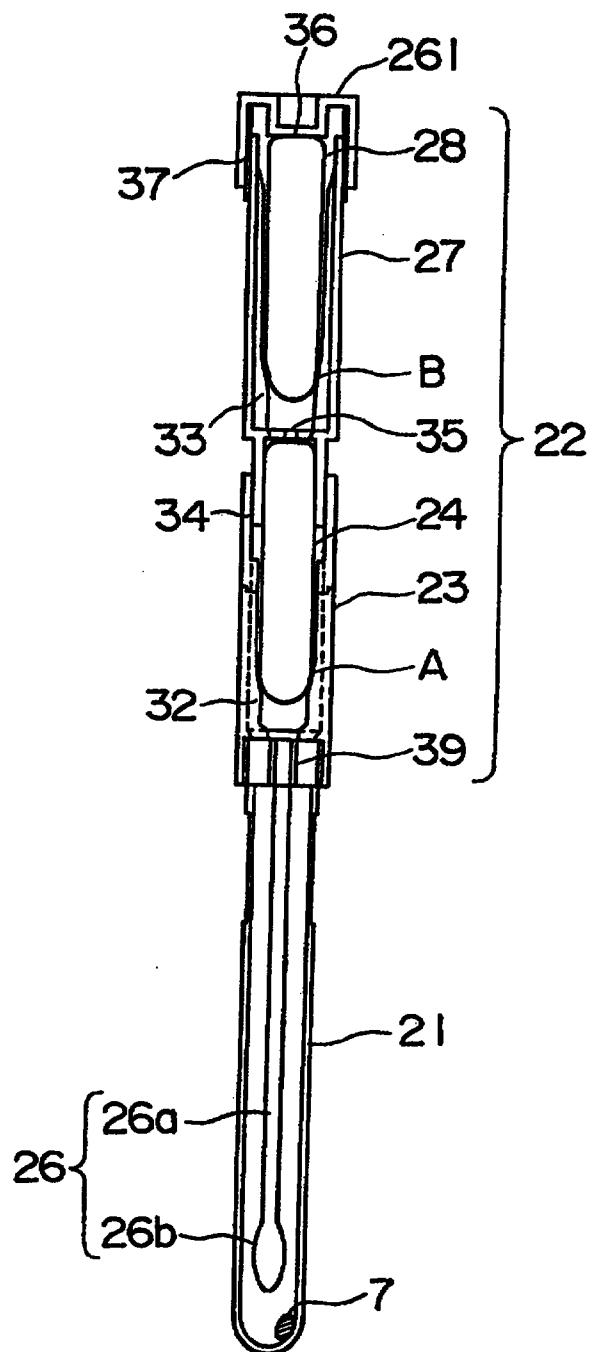


FIG. 6

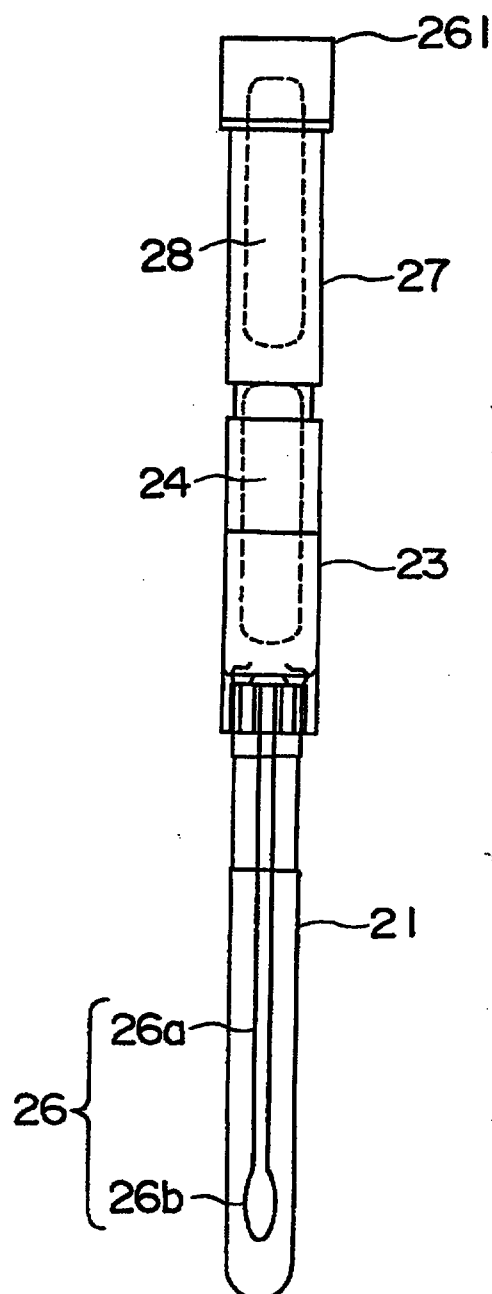


FIG. 7

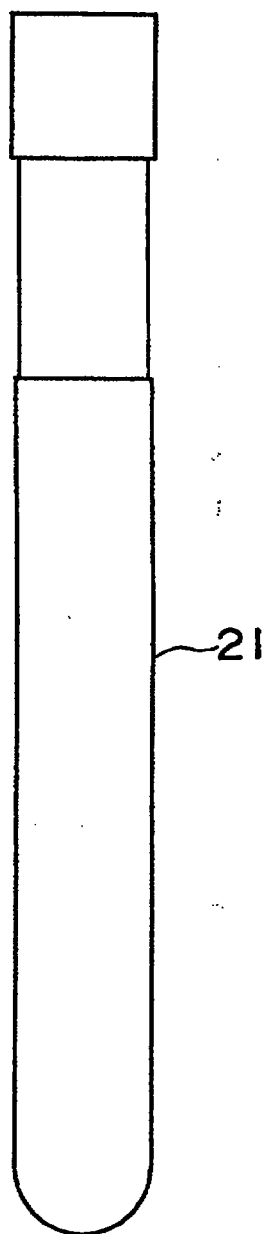


FIG. 8

9 / 6 1

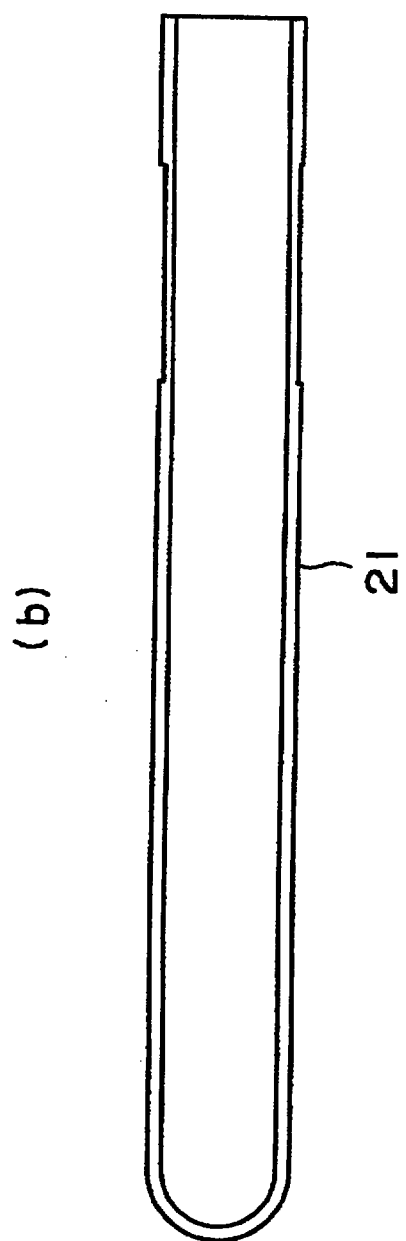
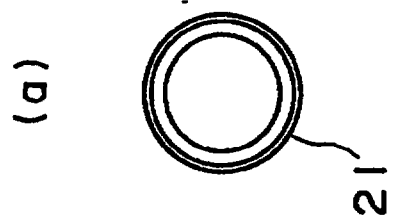


FIG. 9

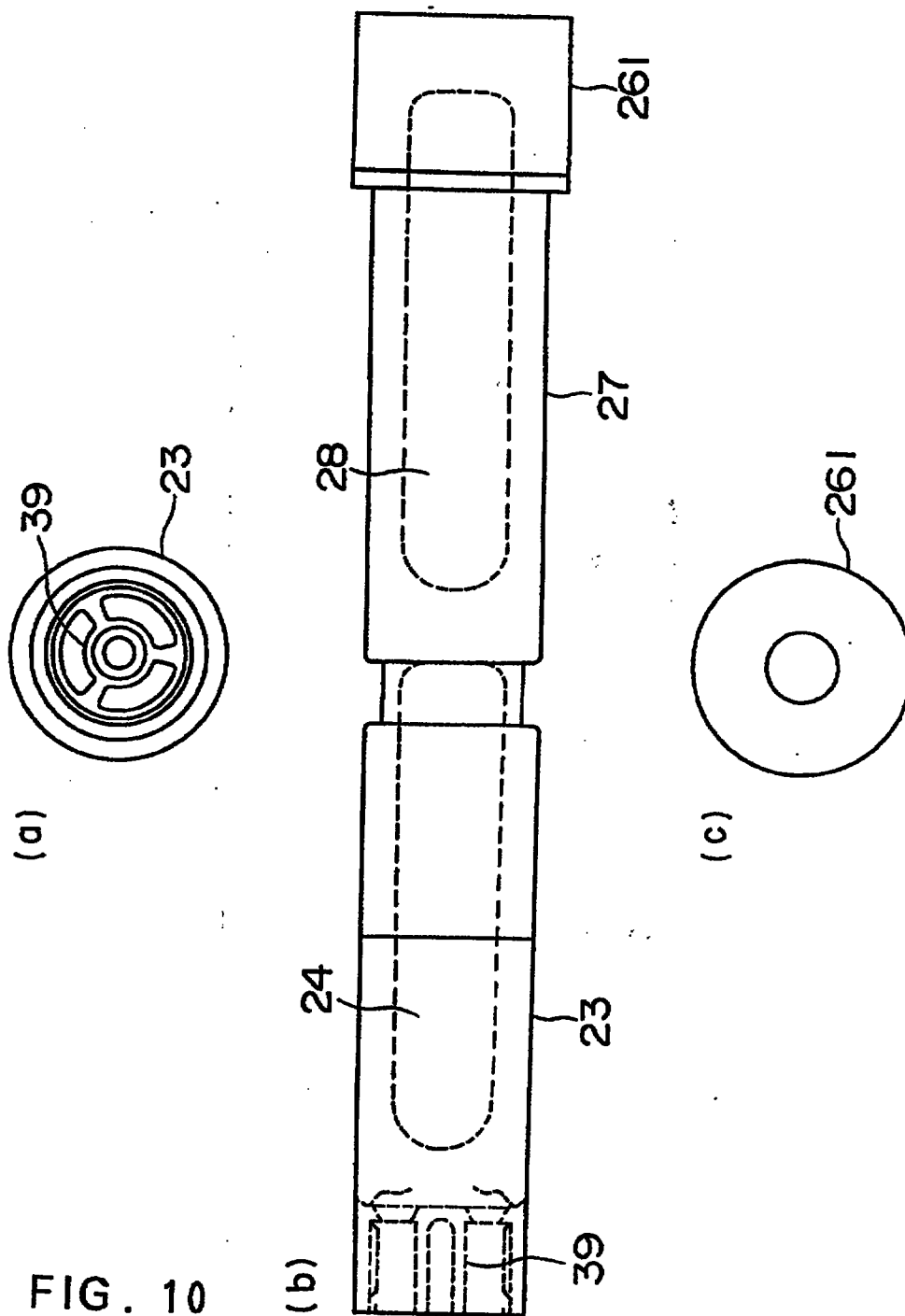


FIG. 10

11 / 61

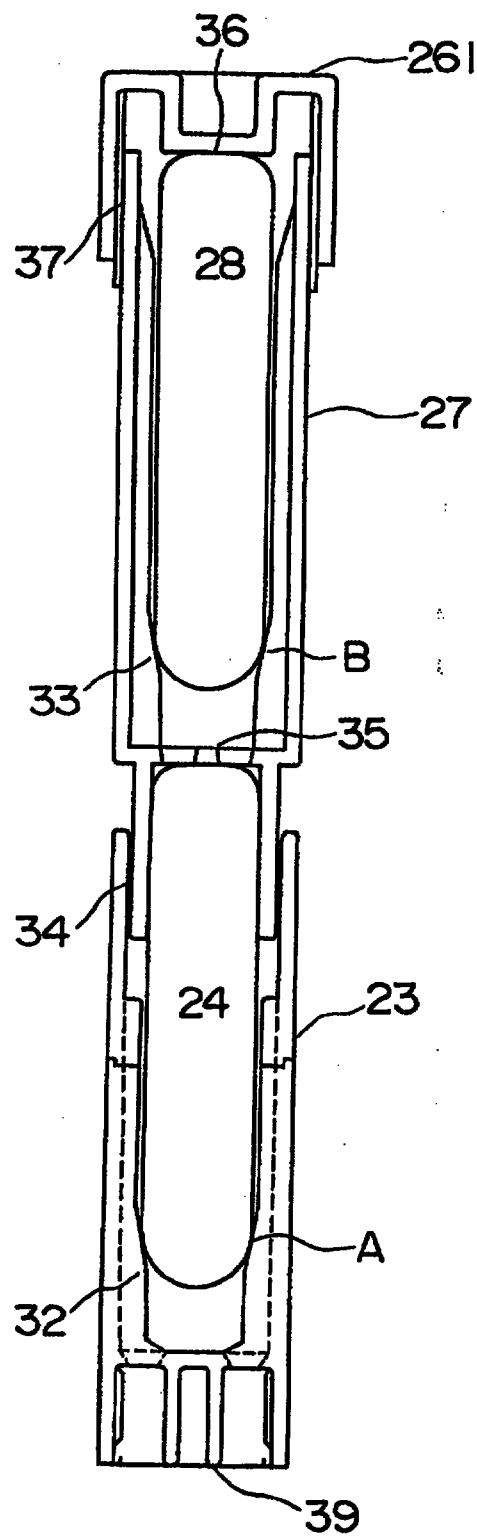


FIG. 11

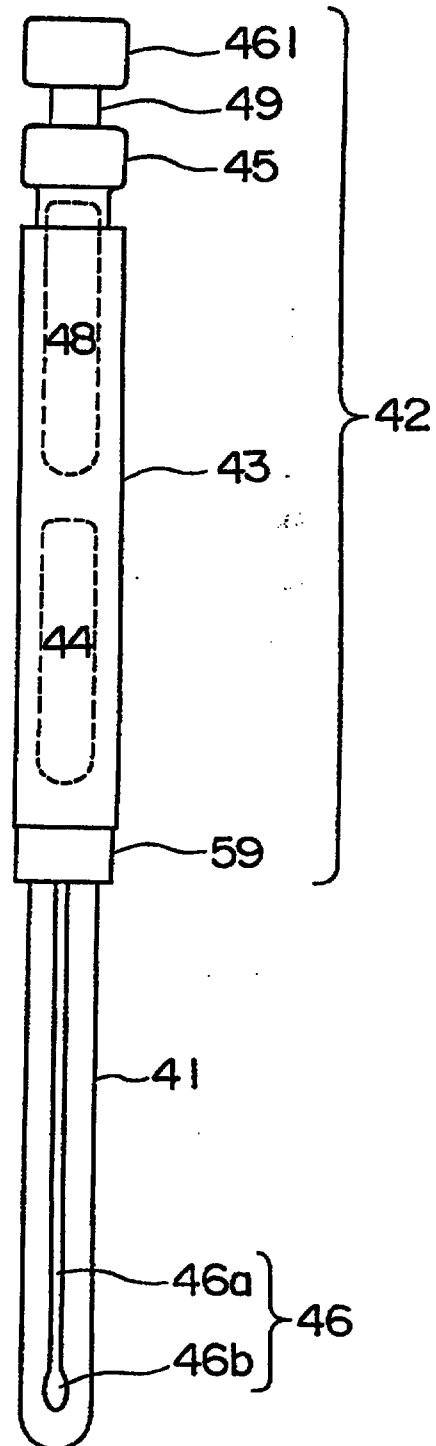


FIG. 12

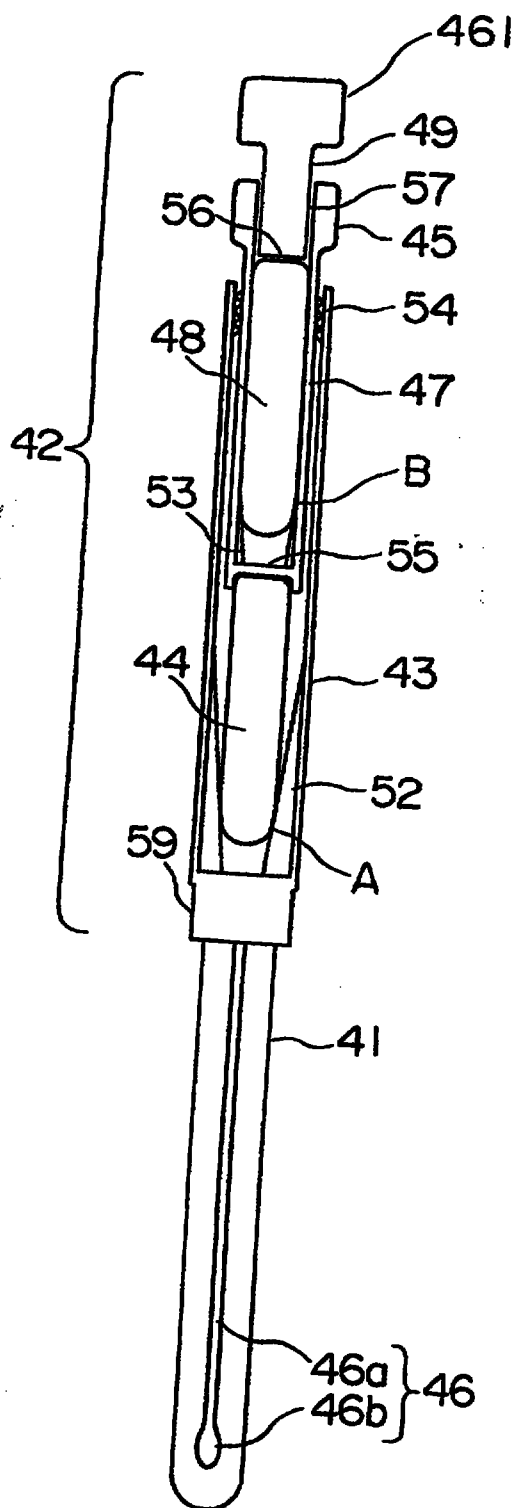


FIG. 13

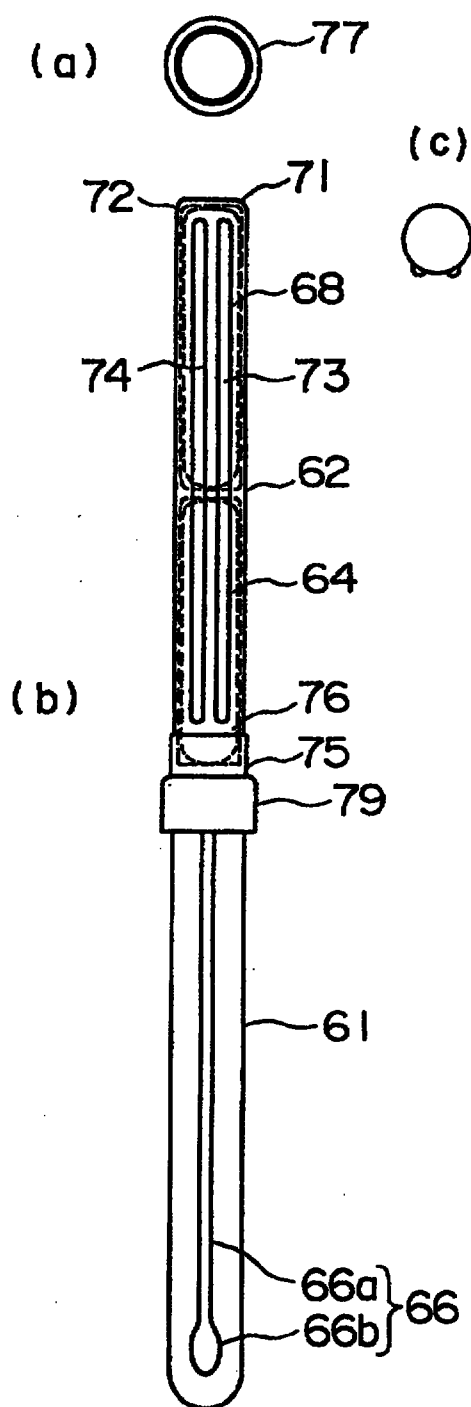


FIG. 14

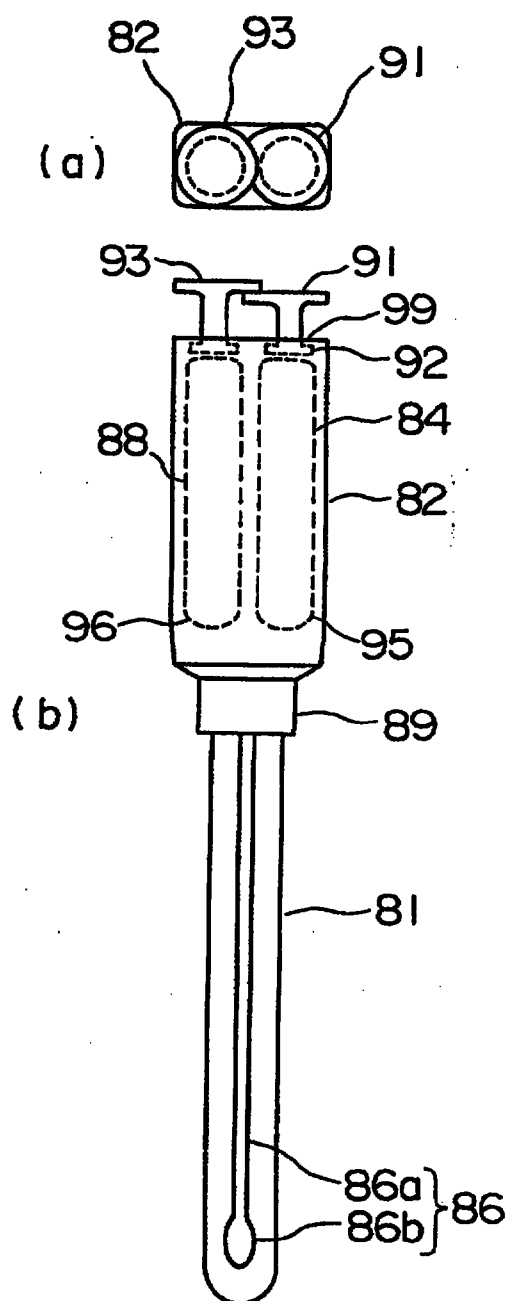


FIG. 15

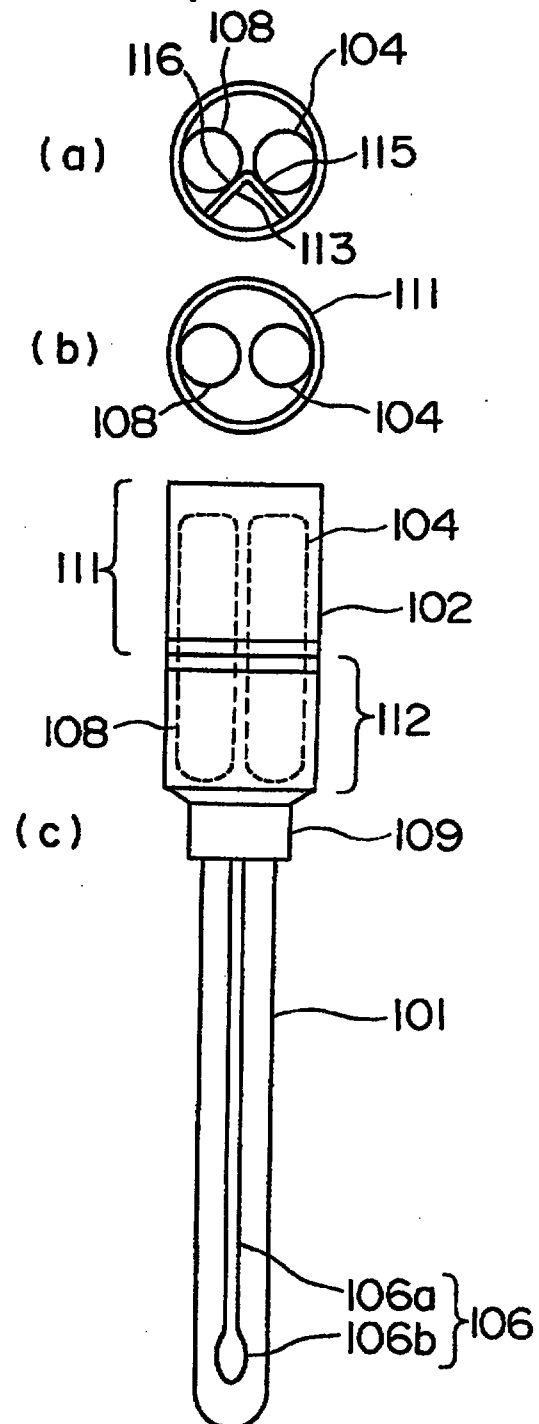


FIG. 16

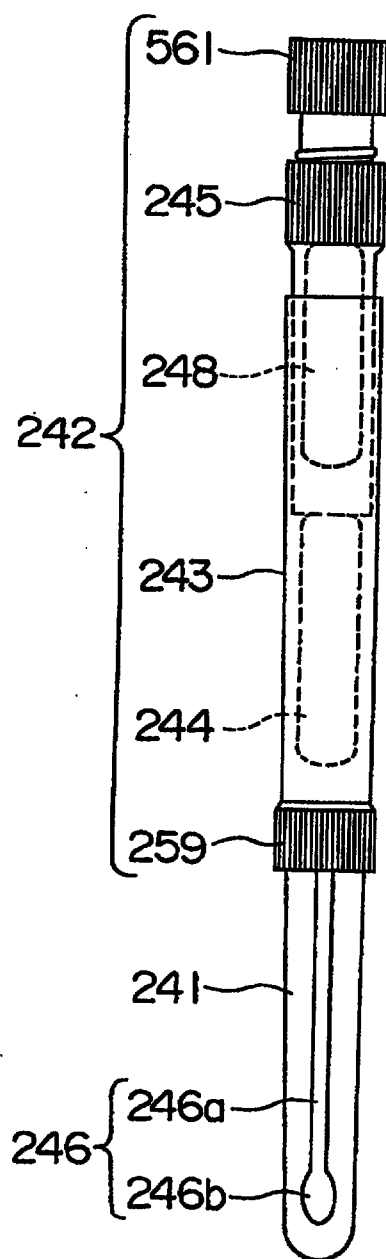


FIG. 17

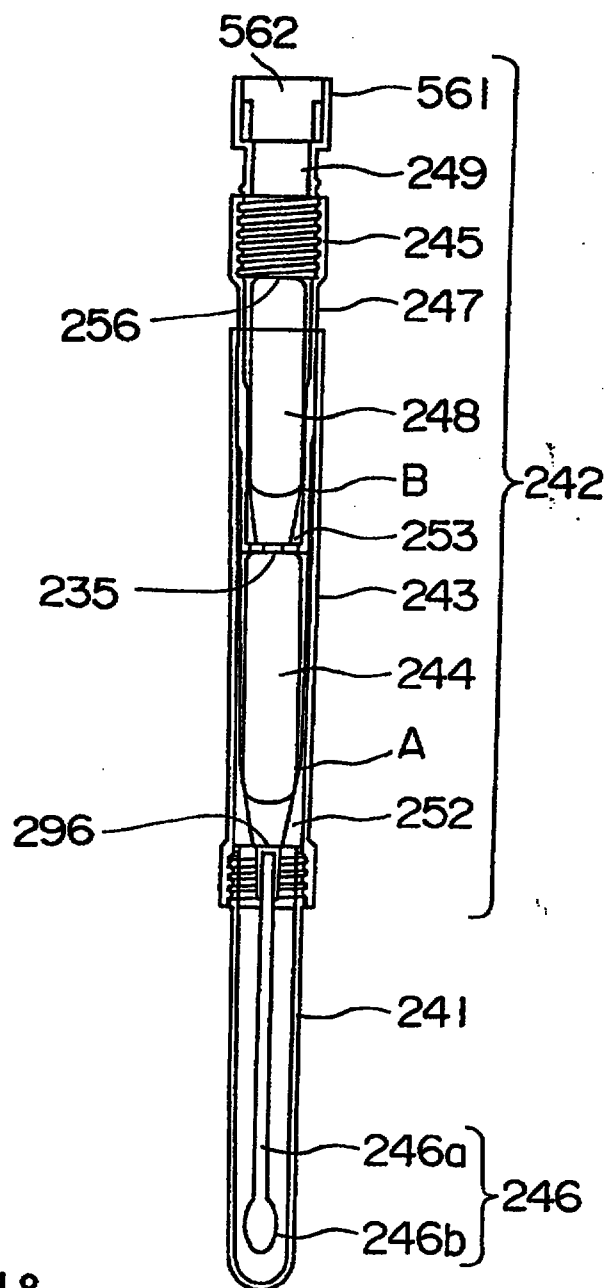
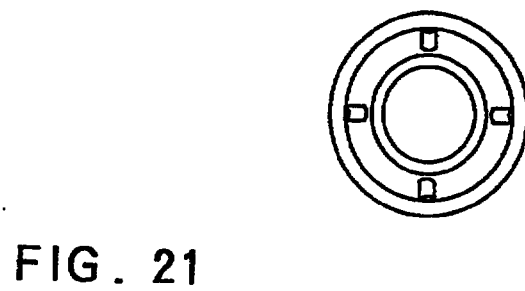
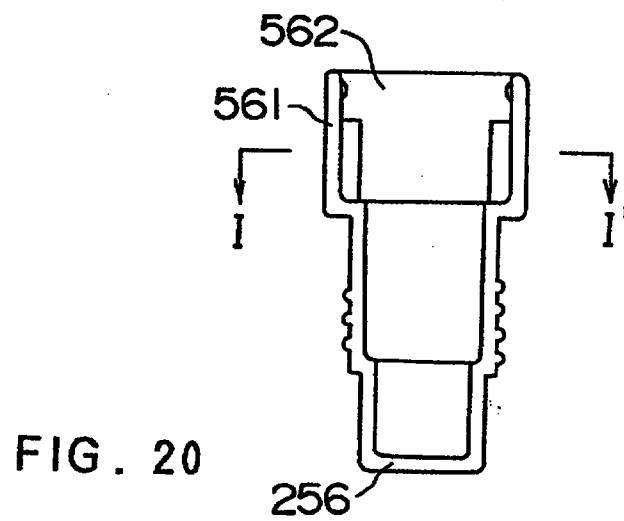
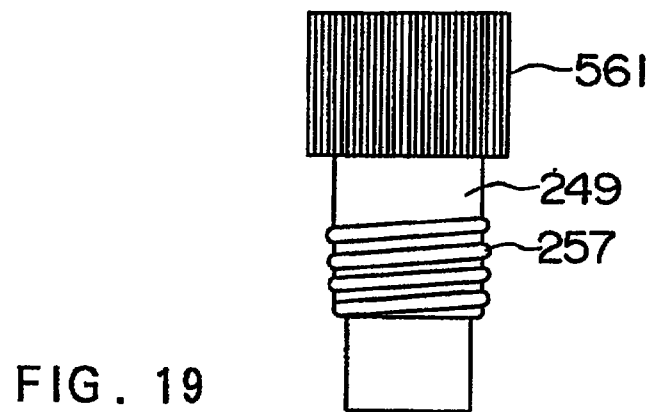


FIG. 18

19 / 61



20 / 61

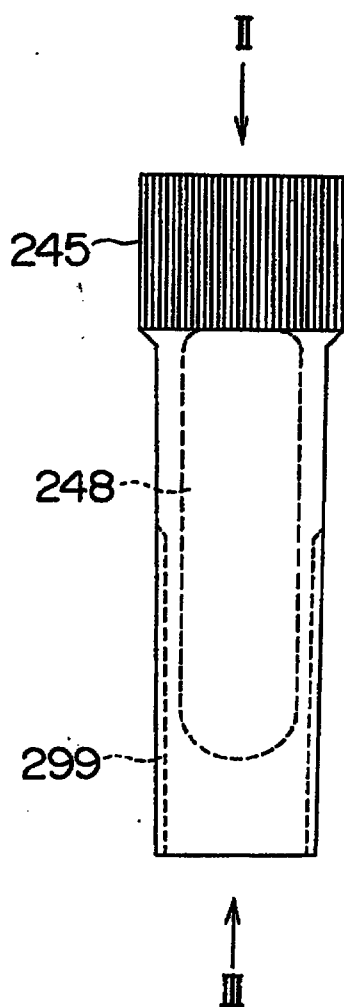


FIG. 22

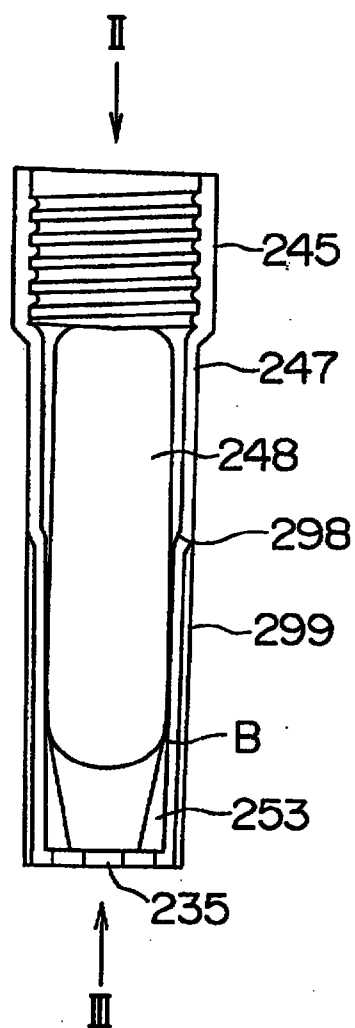


FIG. 23

FIG. 24

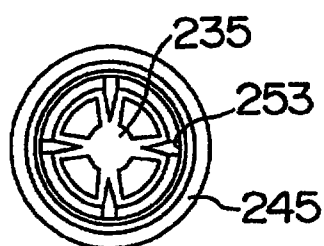
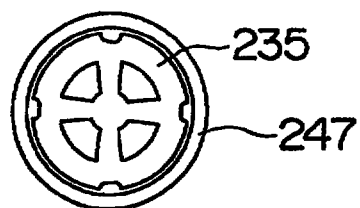


FIG. 25



23 / 6.1

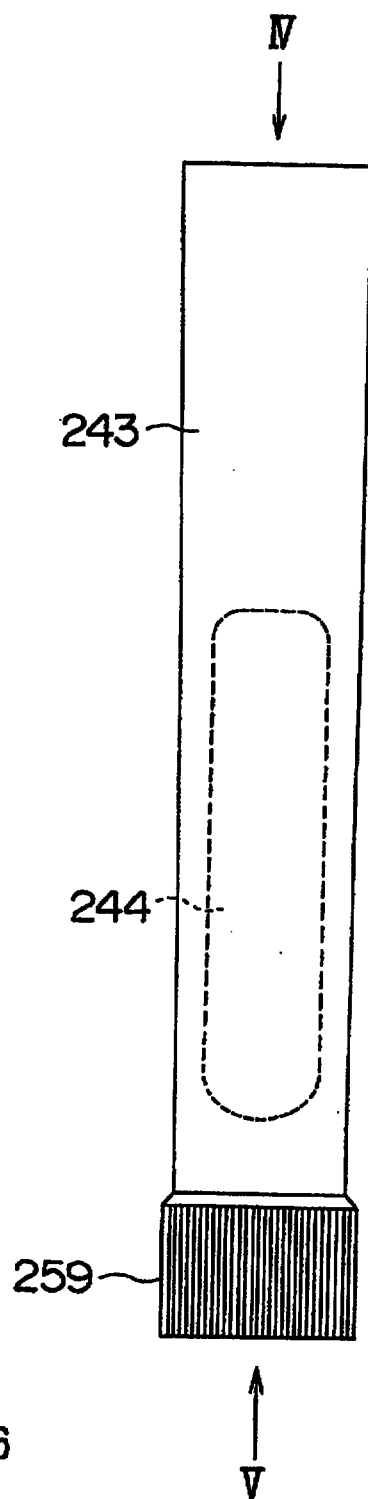


FIG. 26

24 / 61

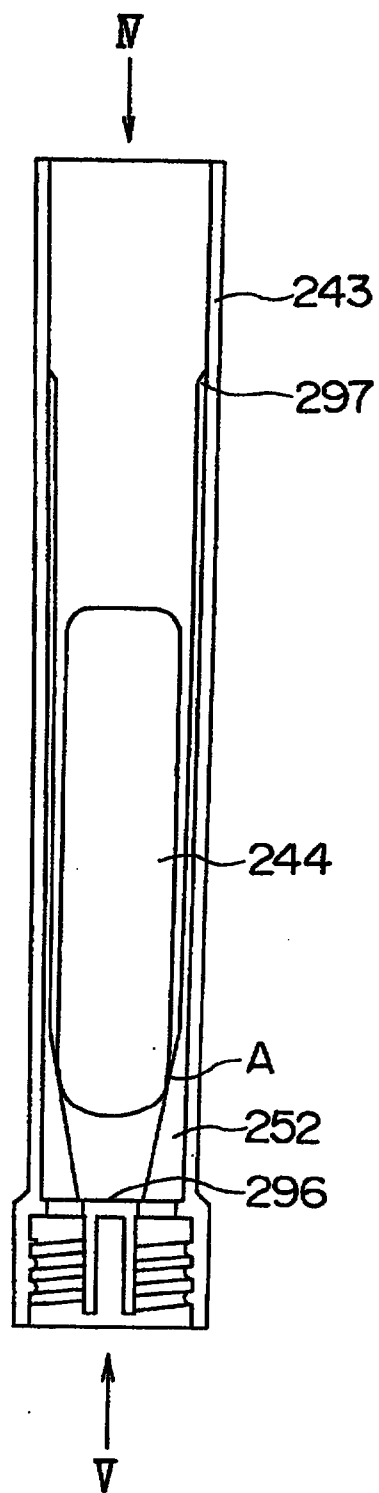


FIG. 27

FIG. 28

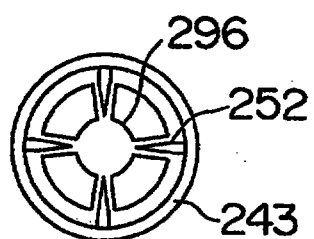
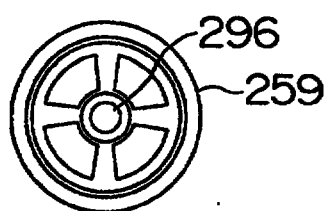


FIG. 29



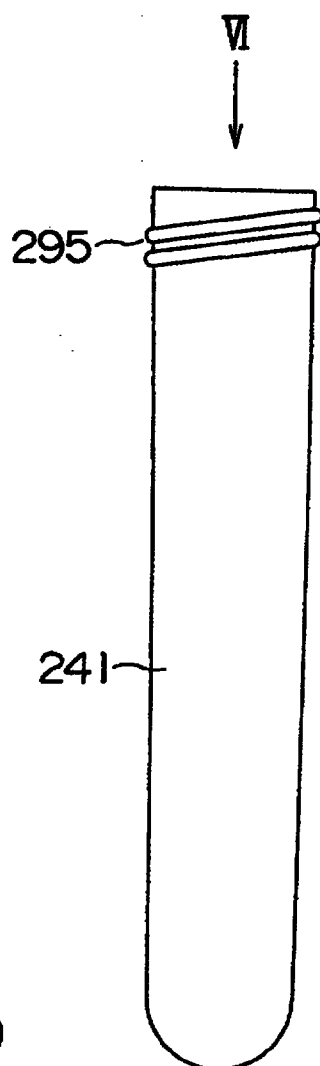


FIG. 30

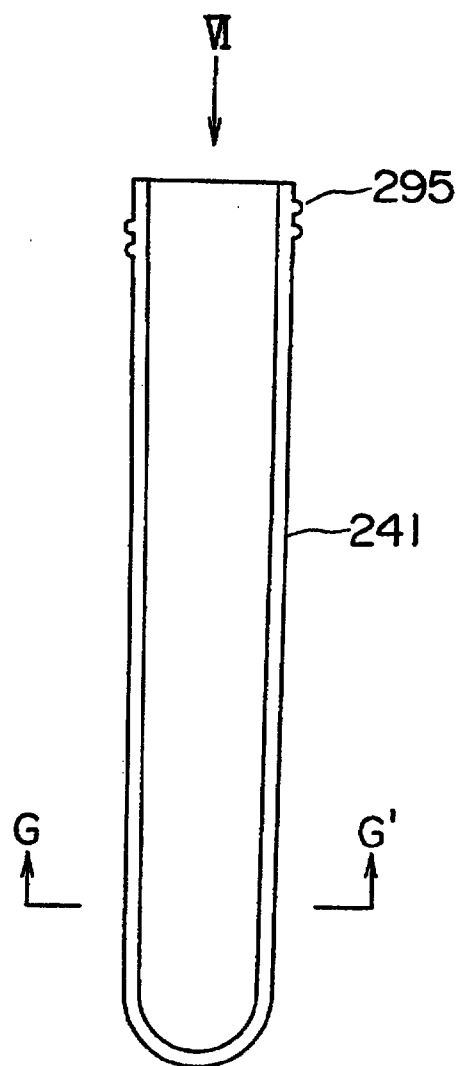


FIG. 31

FIG. 32

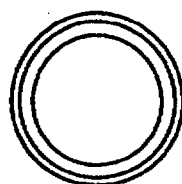
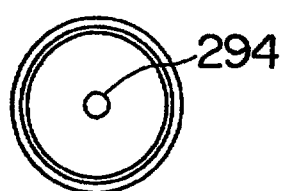


FIG. 33



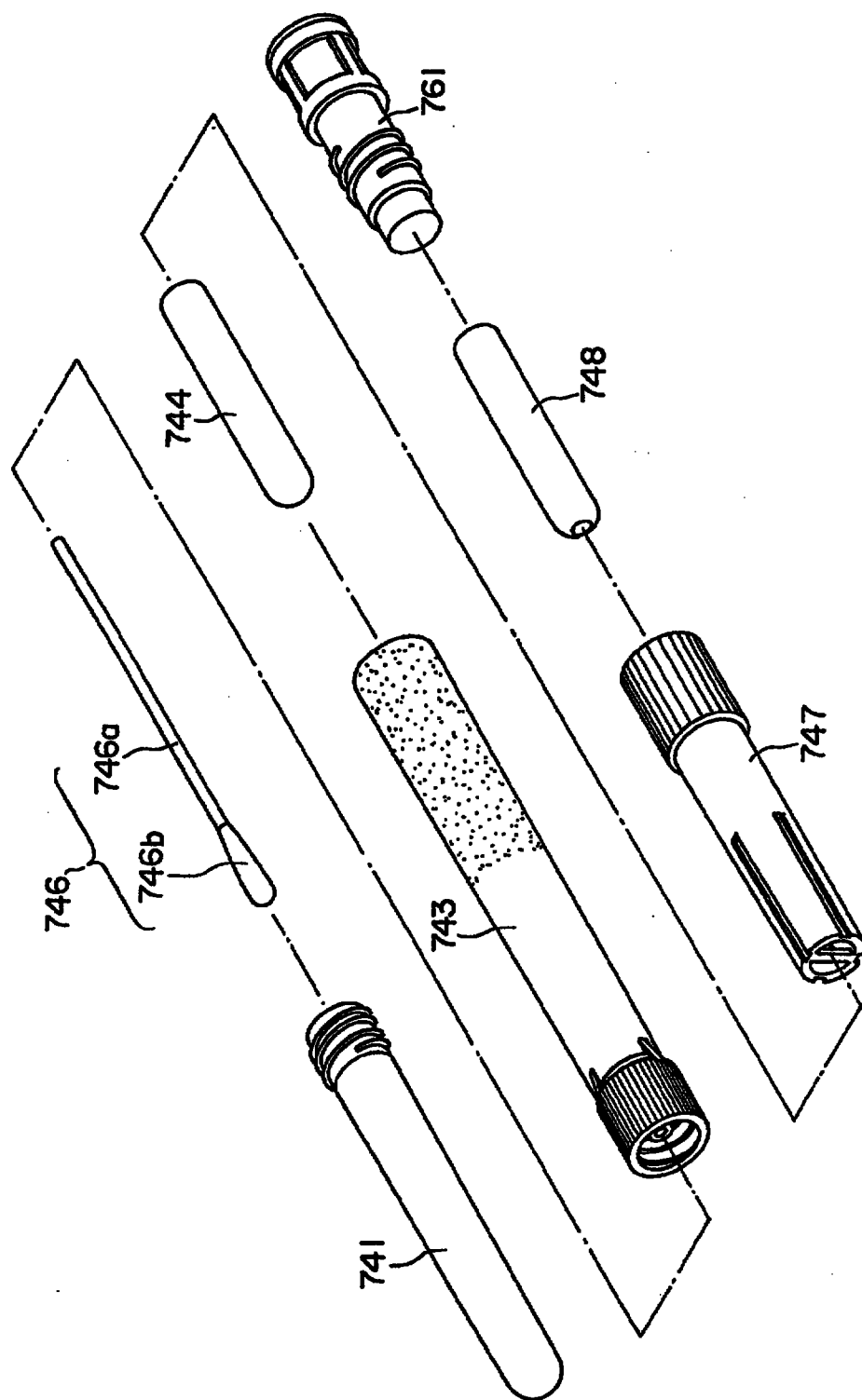


FIG. 34

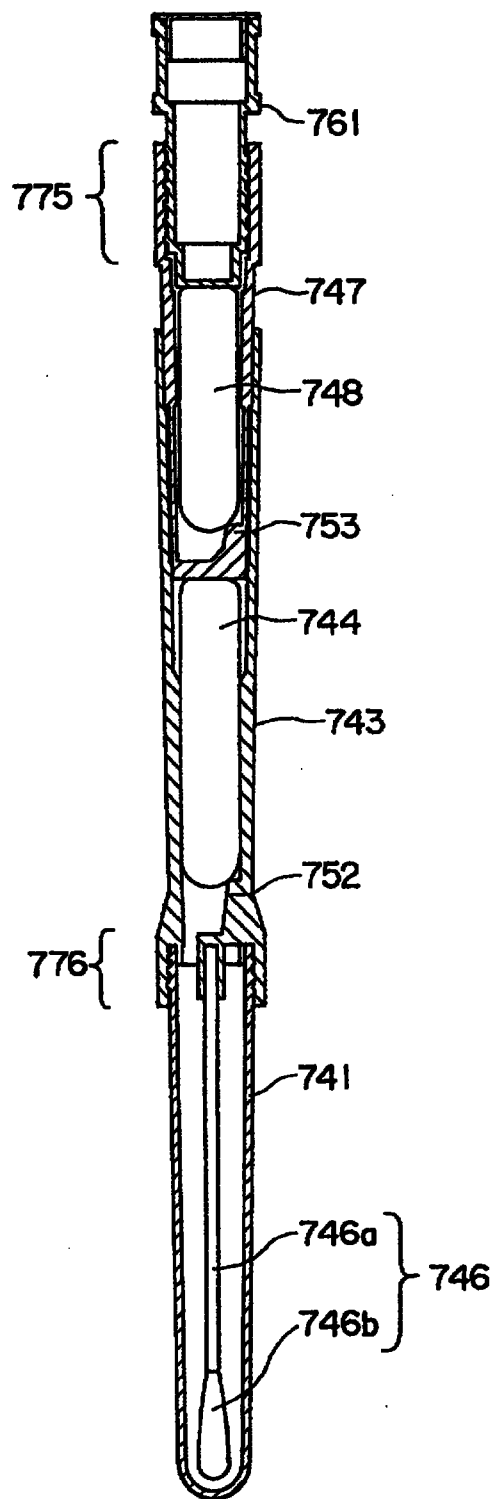


FIG. 35

31 / 61

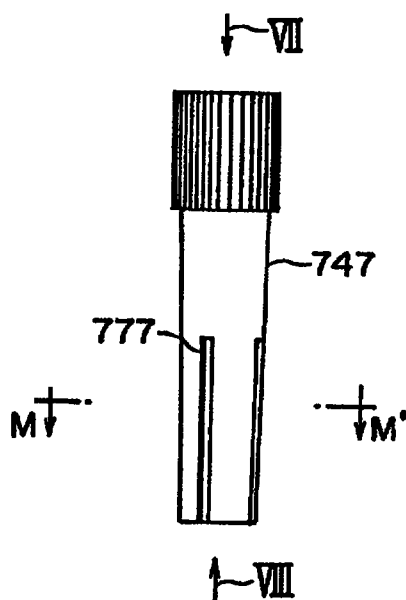


FIG. 36

FIG. 37

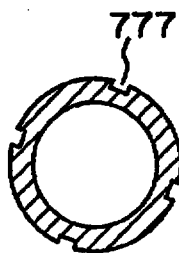


FIG. 38

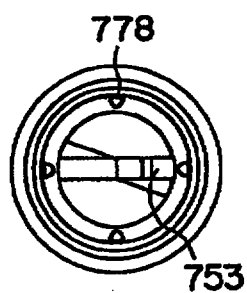
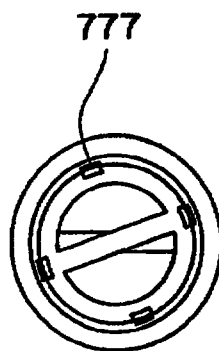


FIG. 39



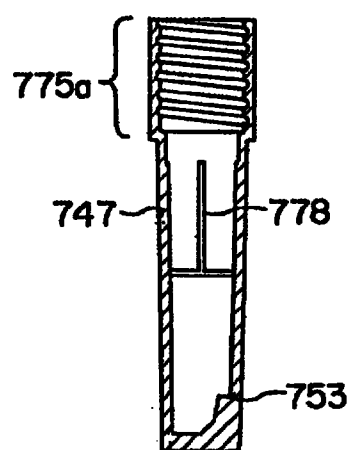


FIG. 40

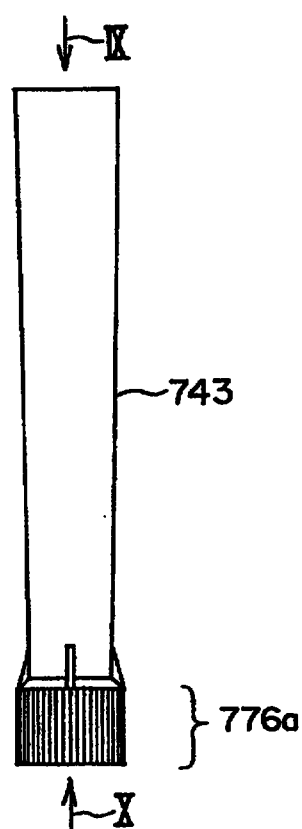


FIG. 41

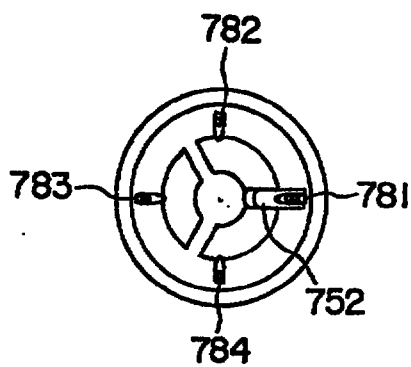


FIG. 42

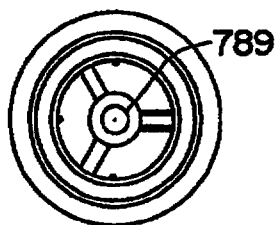


FIG. 43

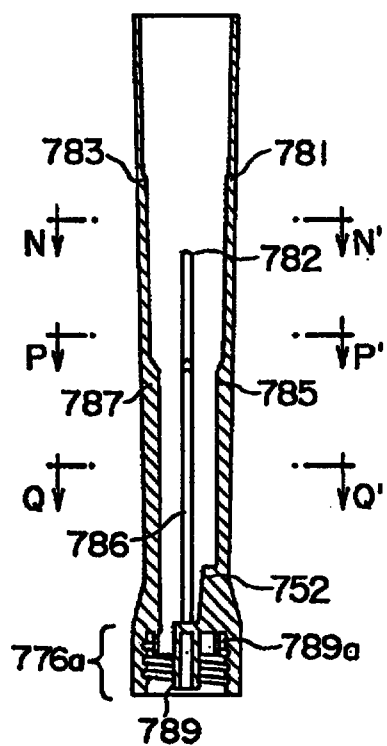


FIG. 44

37/61

FIG. 45

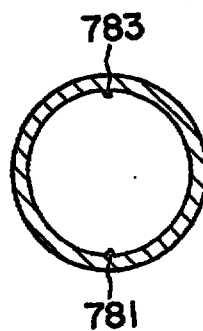


FIG. 46

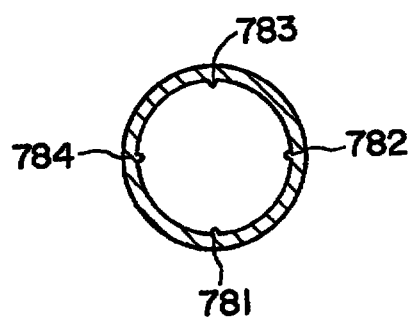
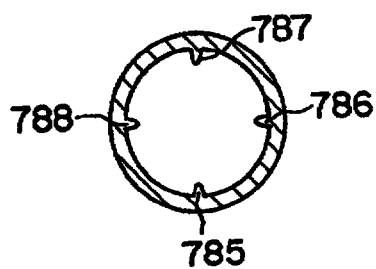


FIG. 47



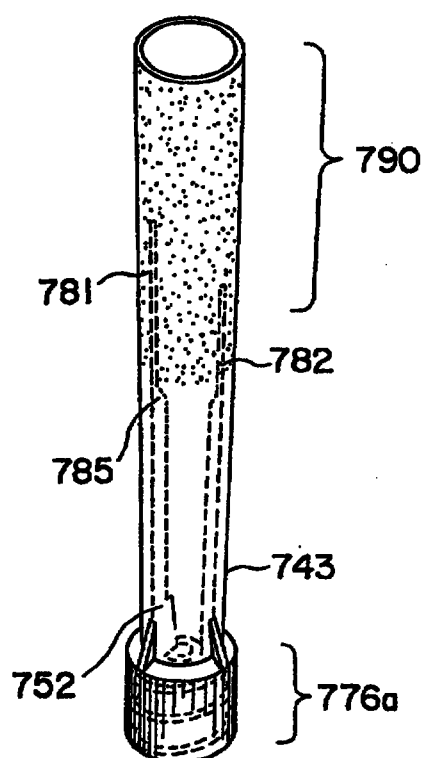


FIG. 48

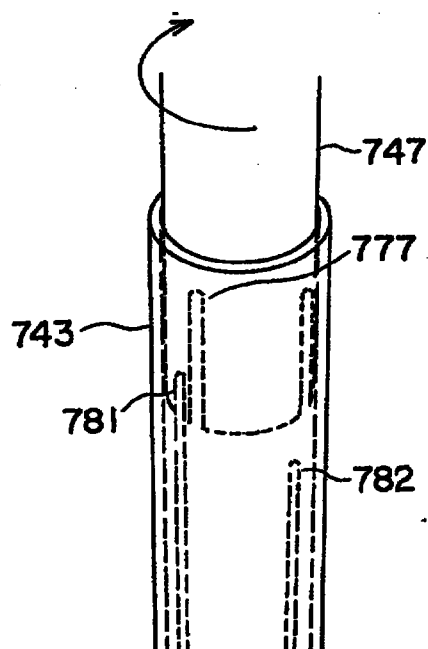


FIG. 49

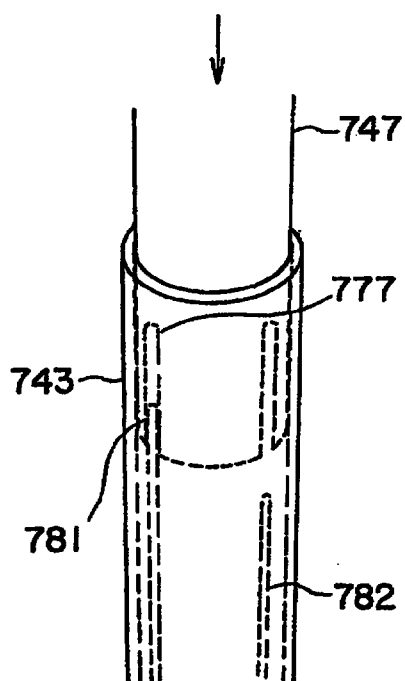


FIG. 50

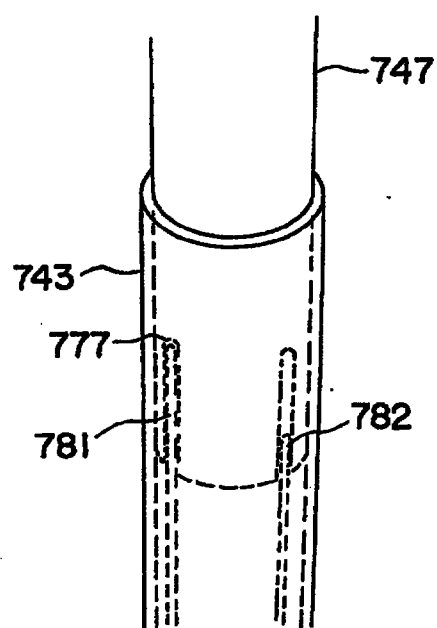


FIG. 51

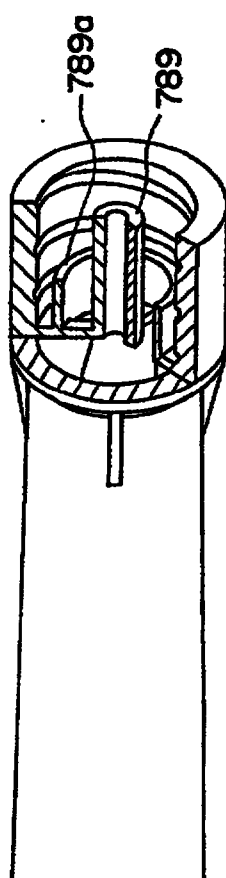


FIG. 52

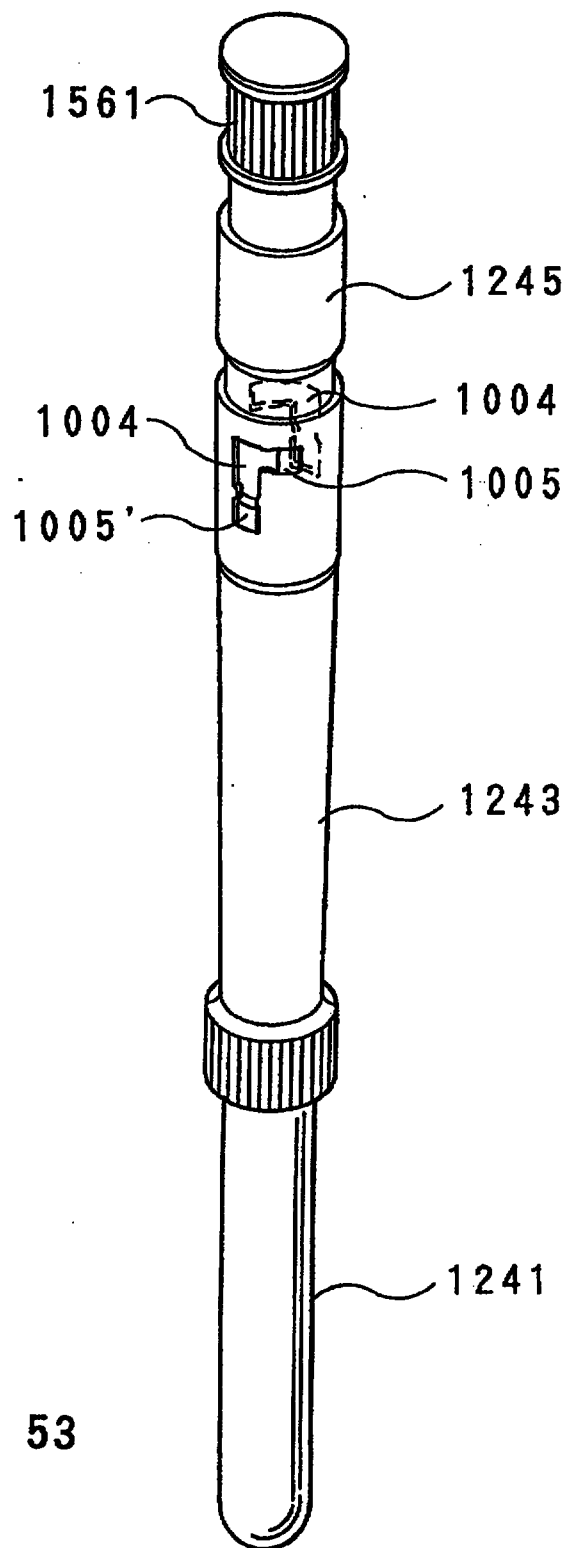
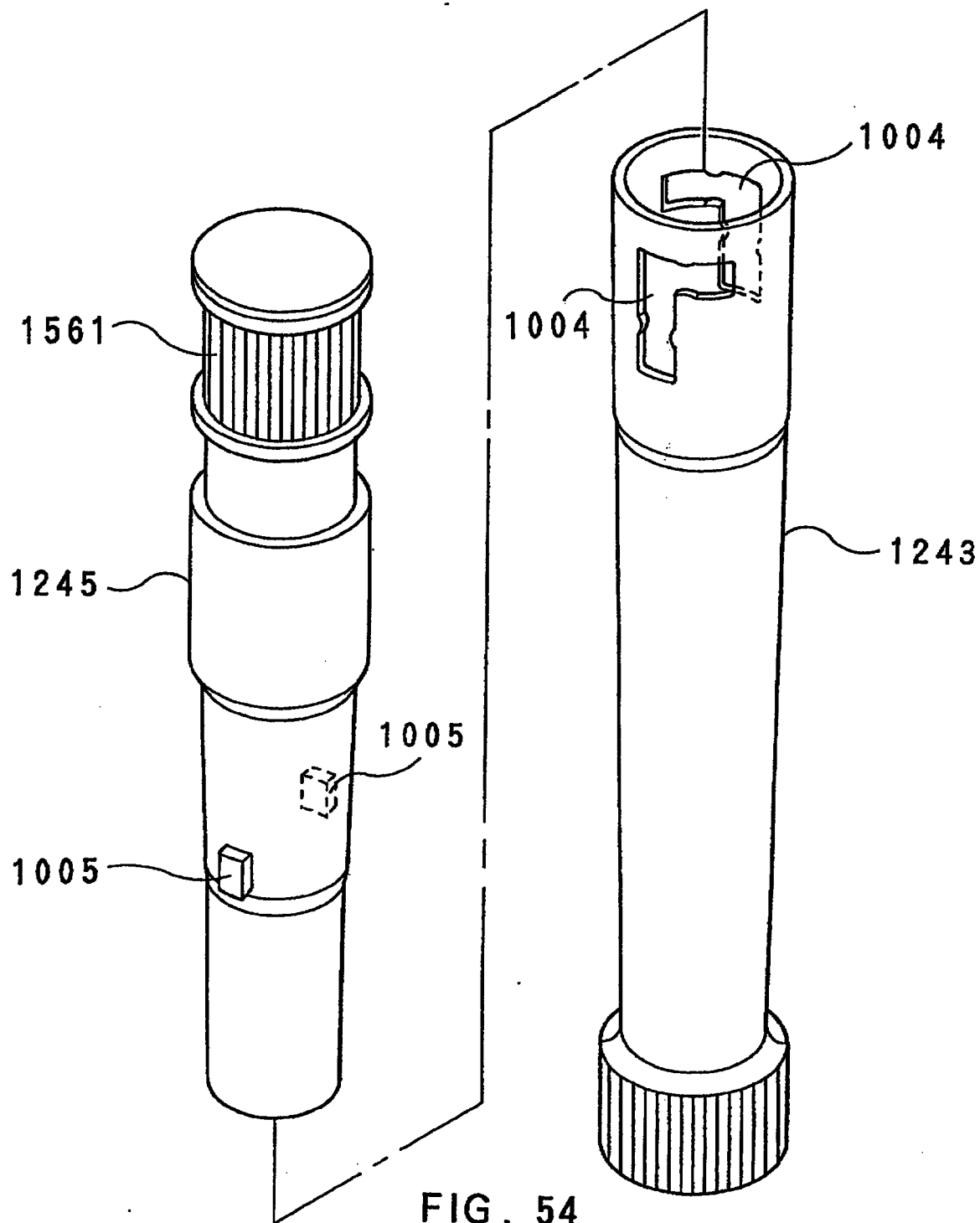


FIG. 53



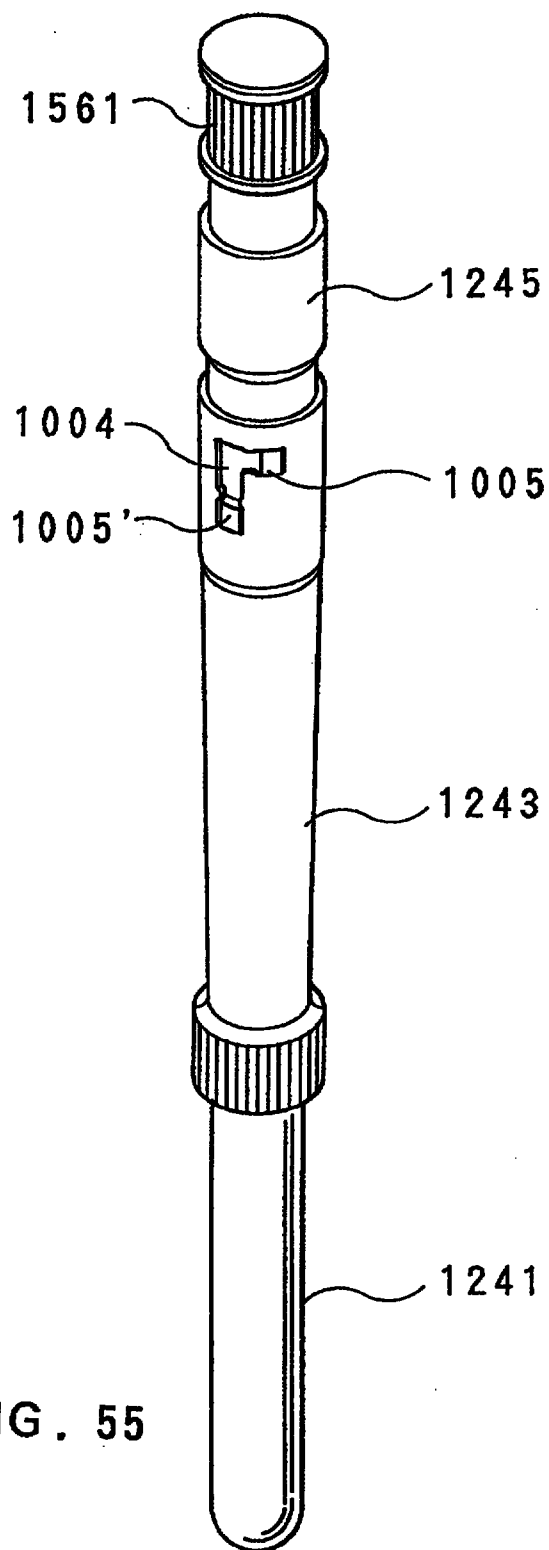
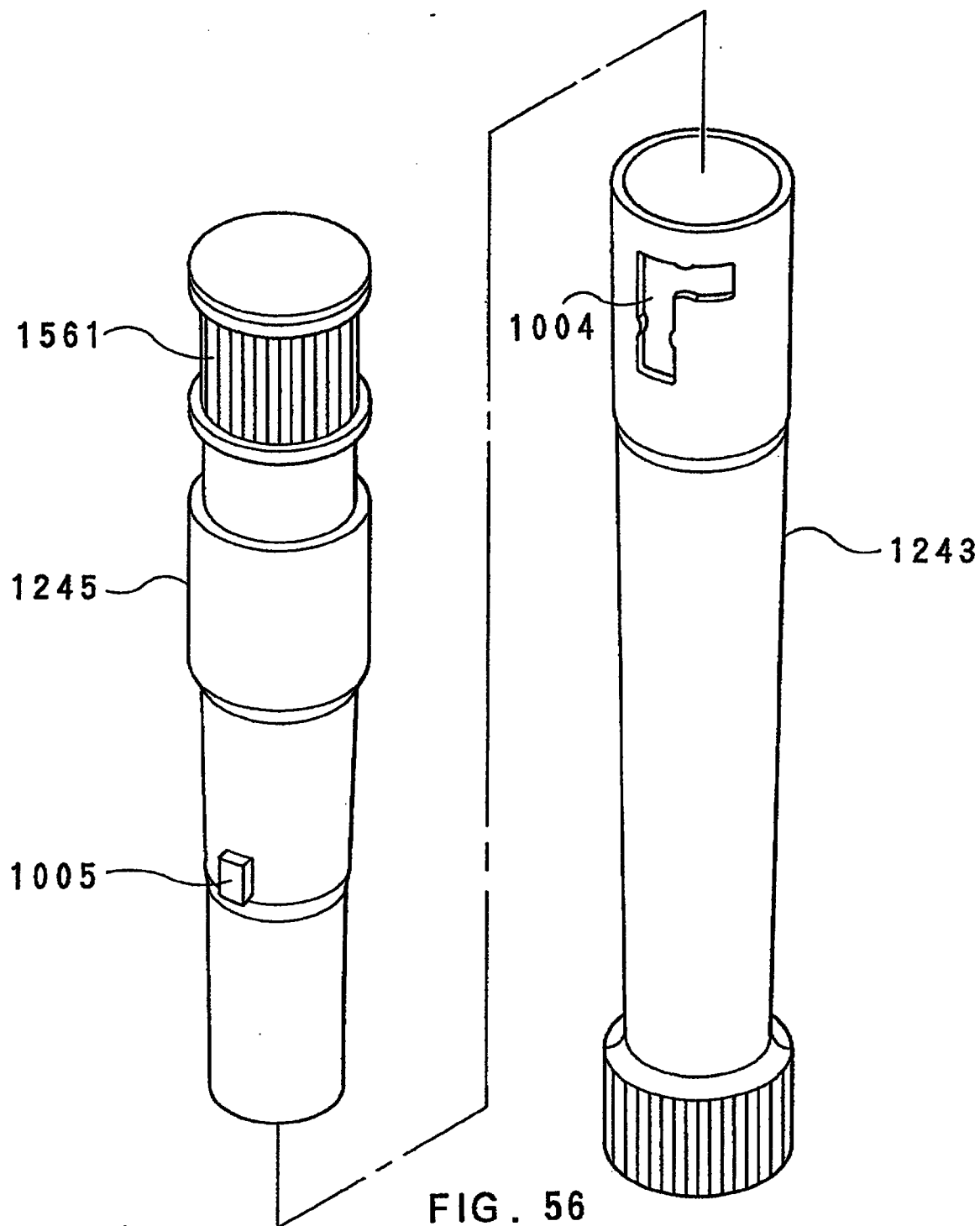


FIG. 55



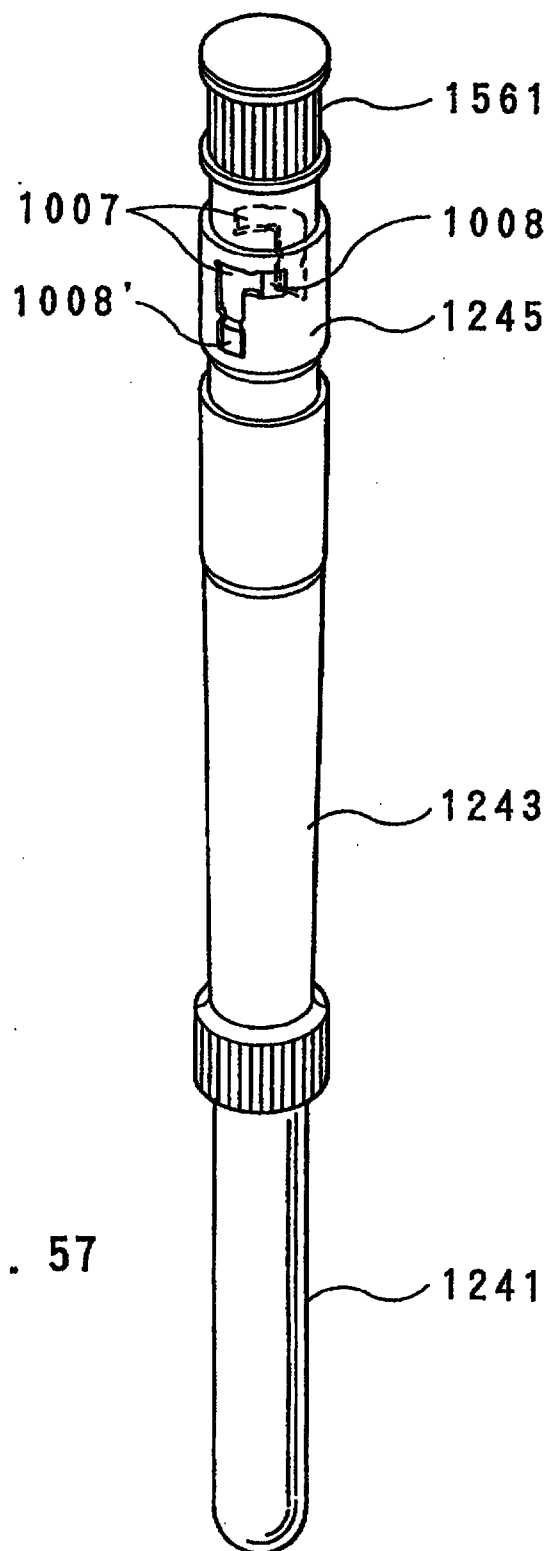


FIG. 57

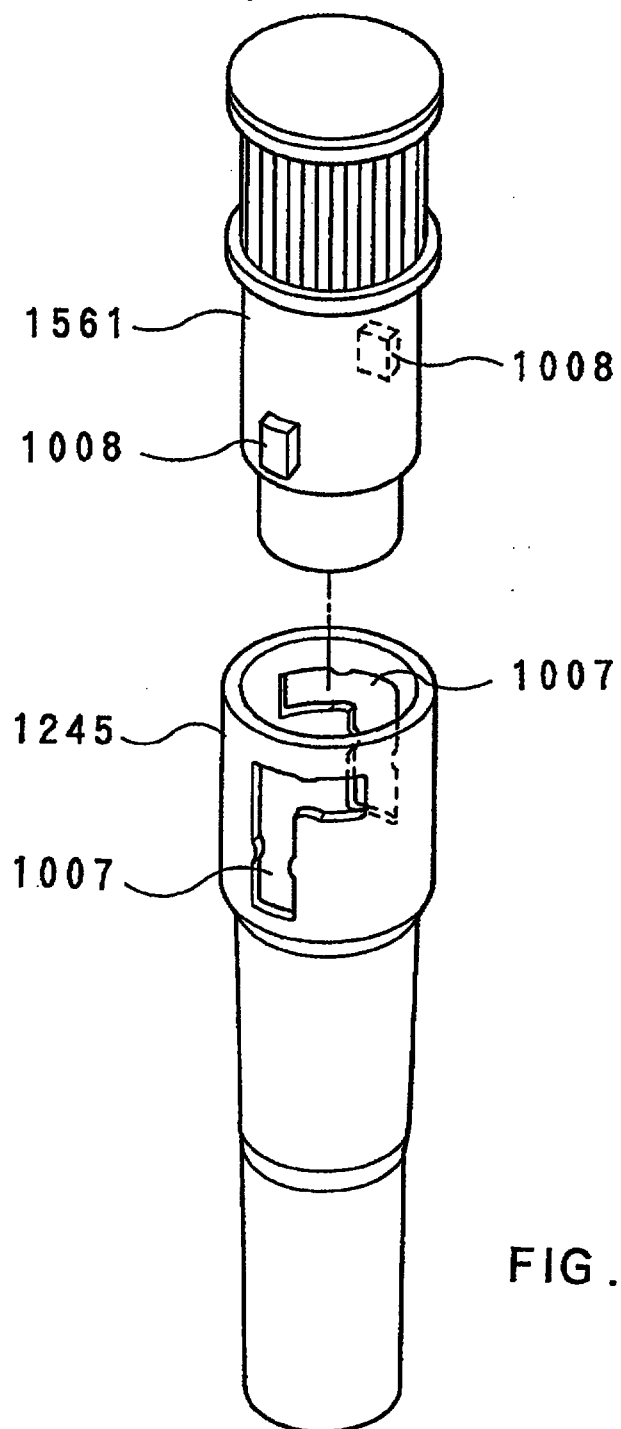


FIG. 58

48 / 61

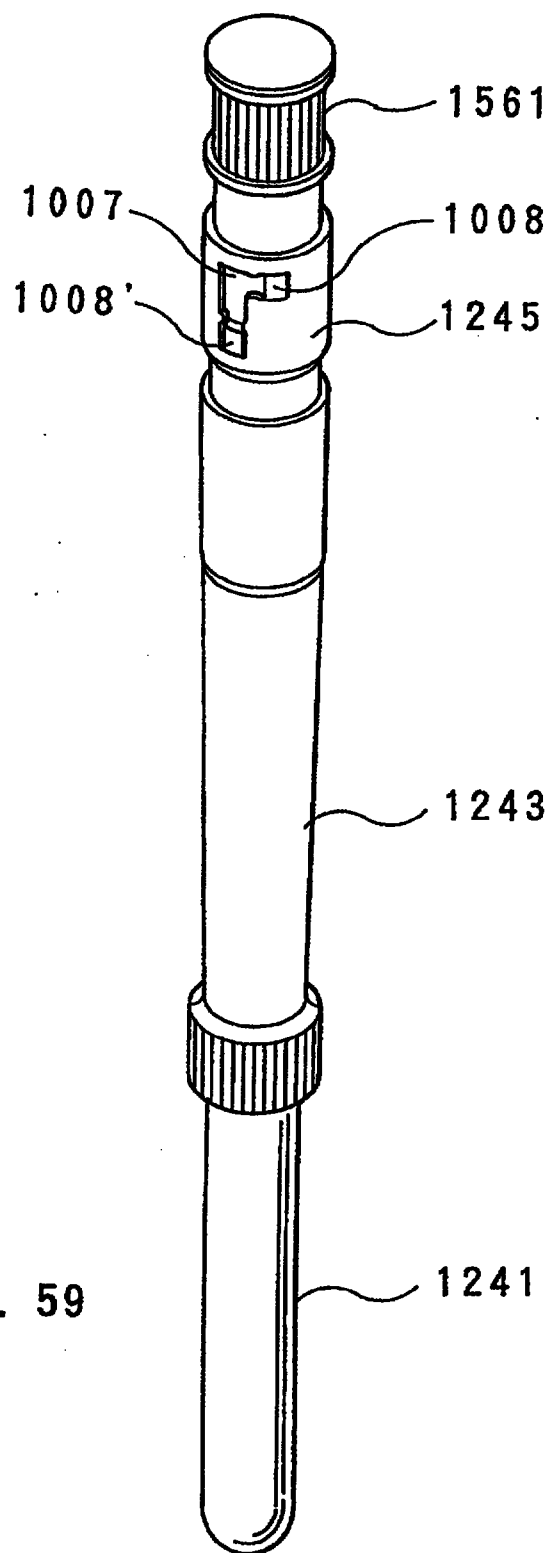


FIG. 59

49 / 61

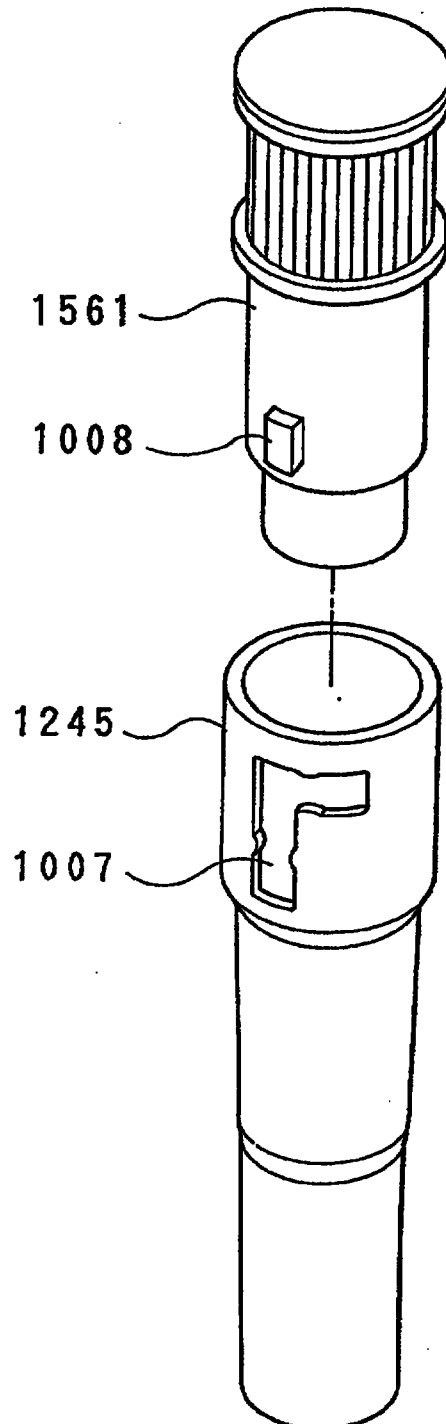


FIG. 60

50 / 61

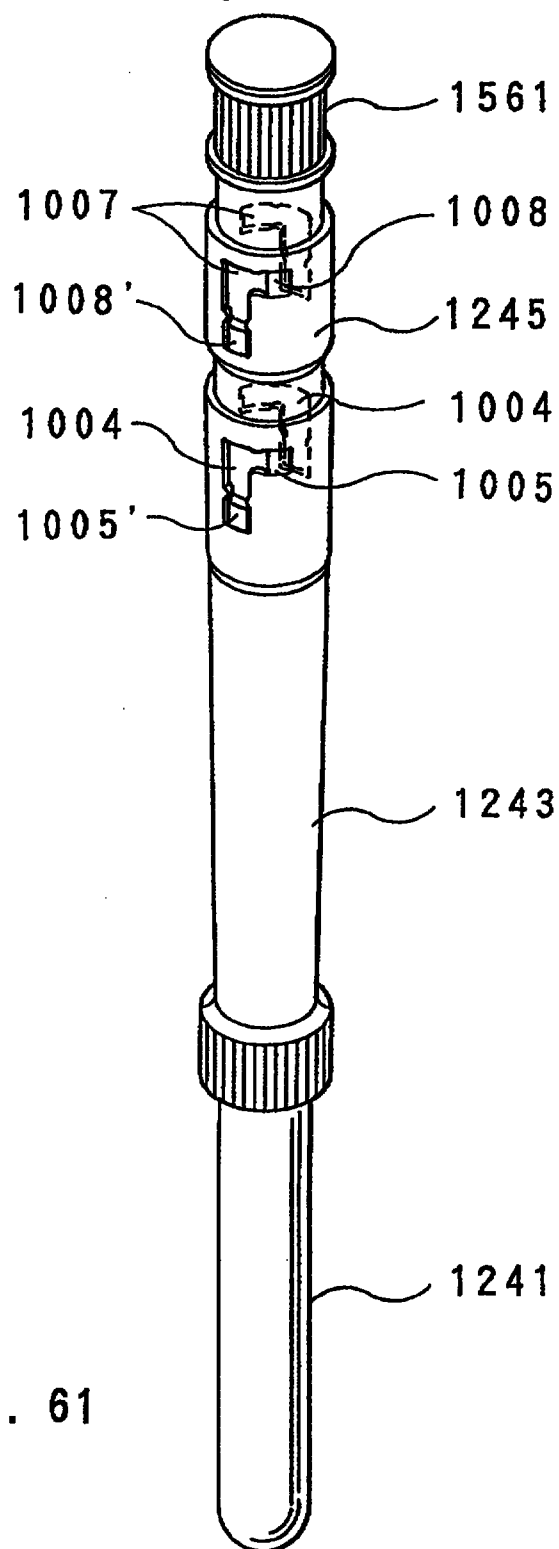


FIG. 61

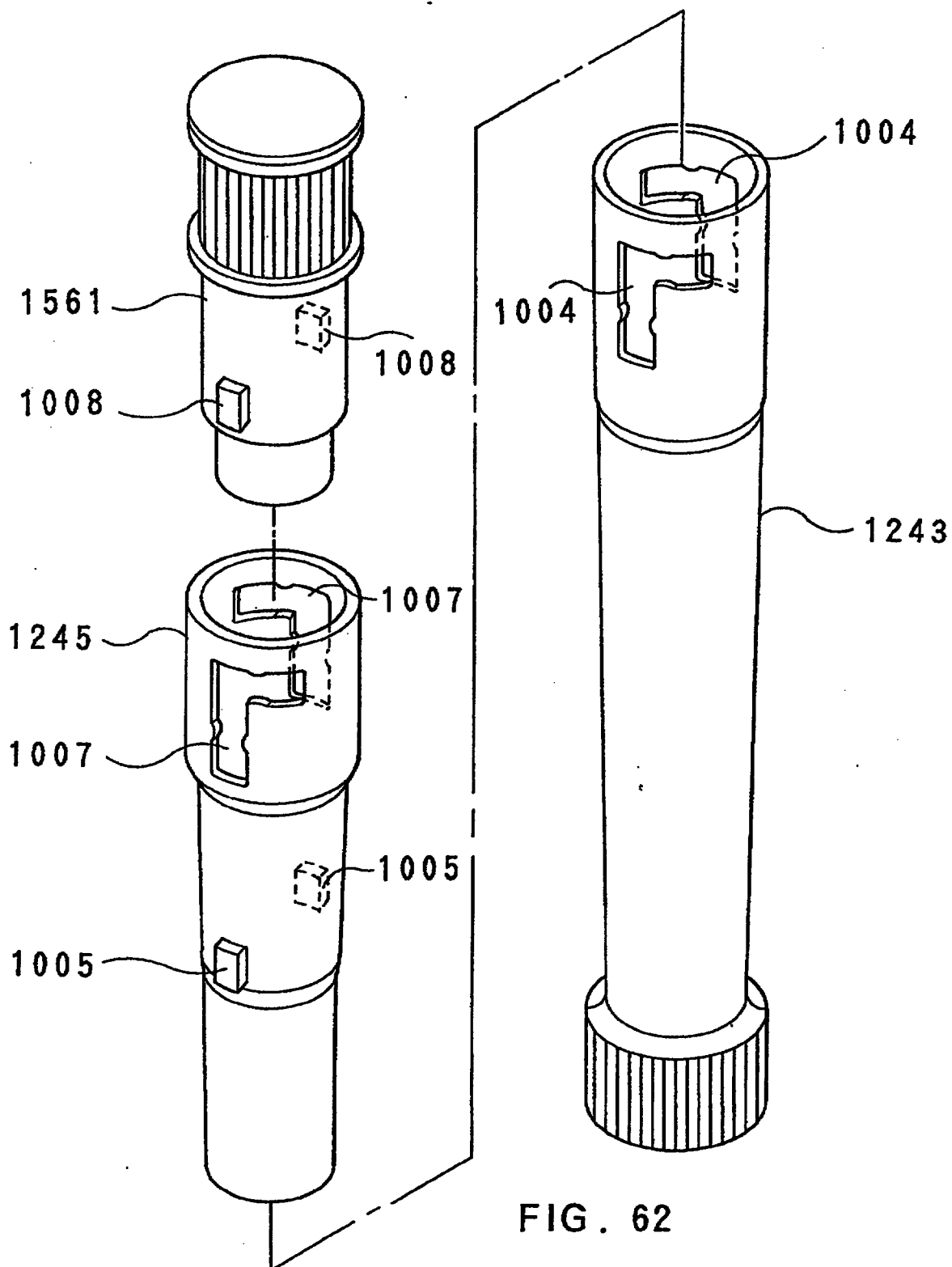


FIG. 62

52 / 61

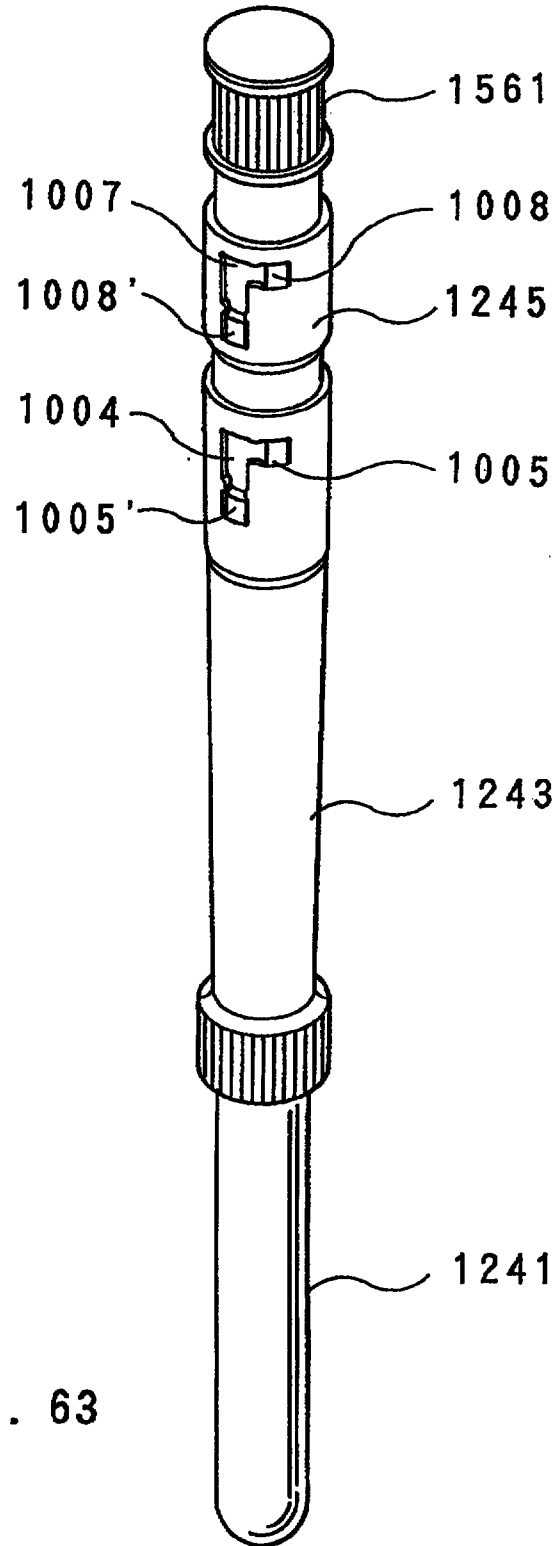


FIG. 63

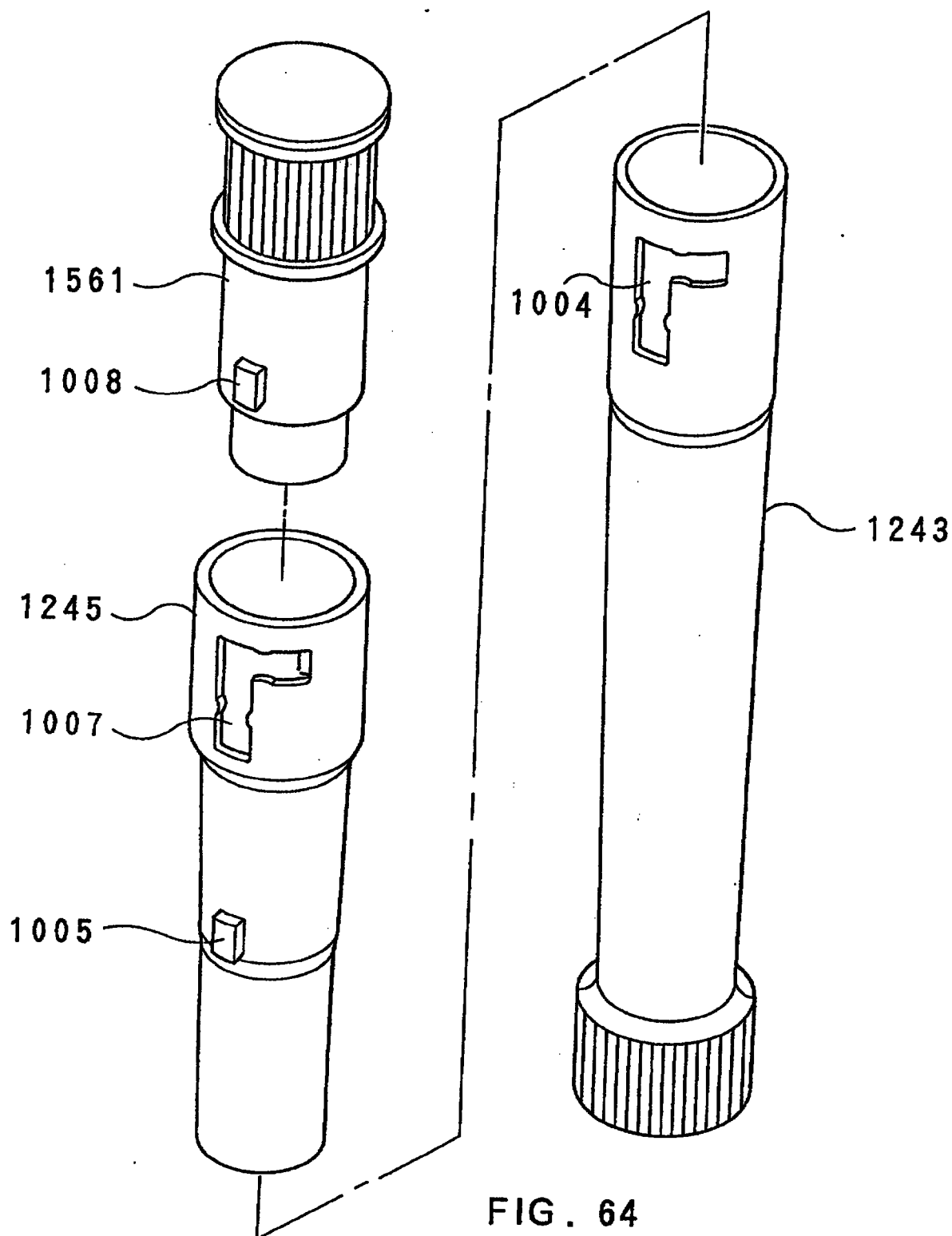


FIG. 65

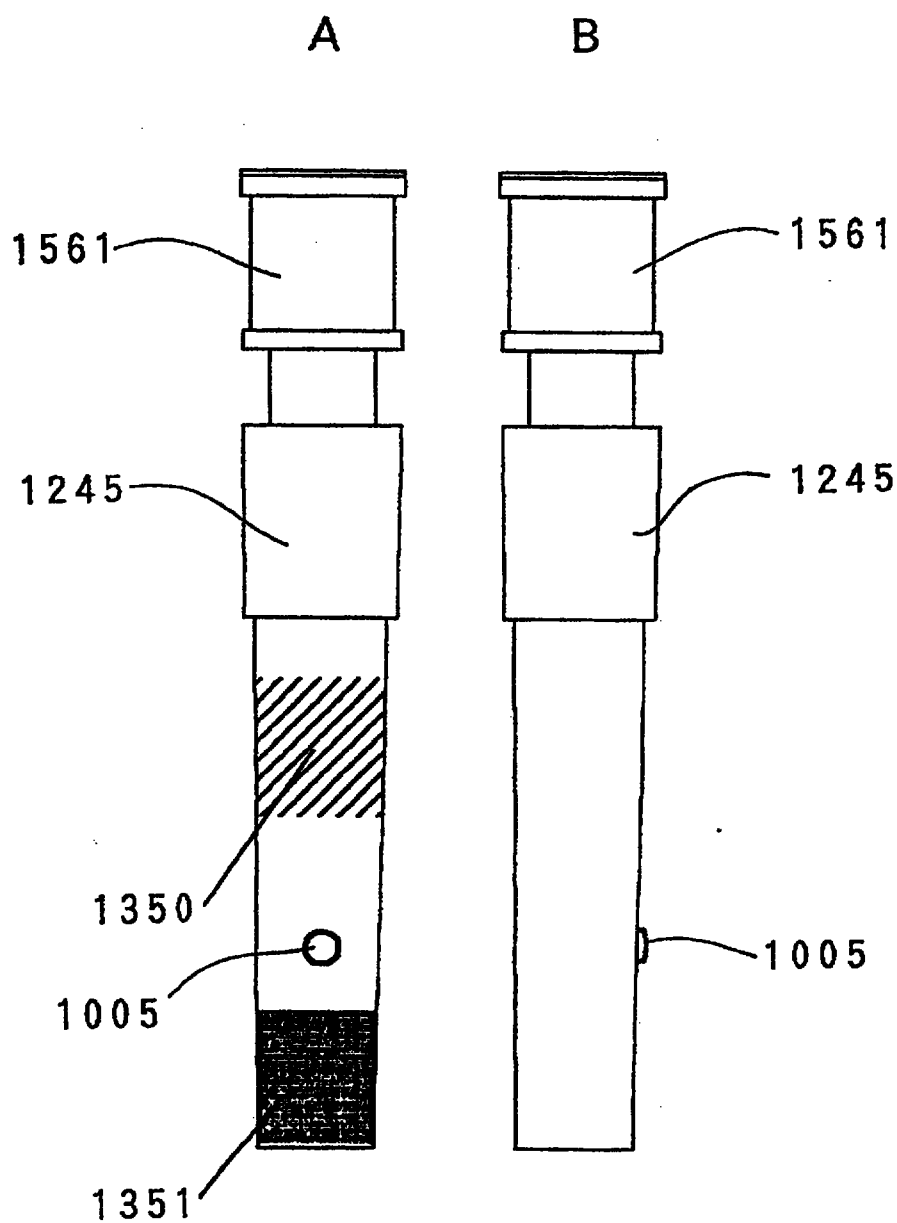


FIG. 66

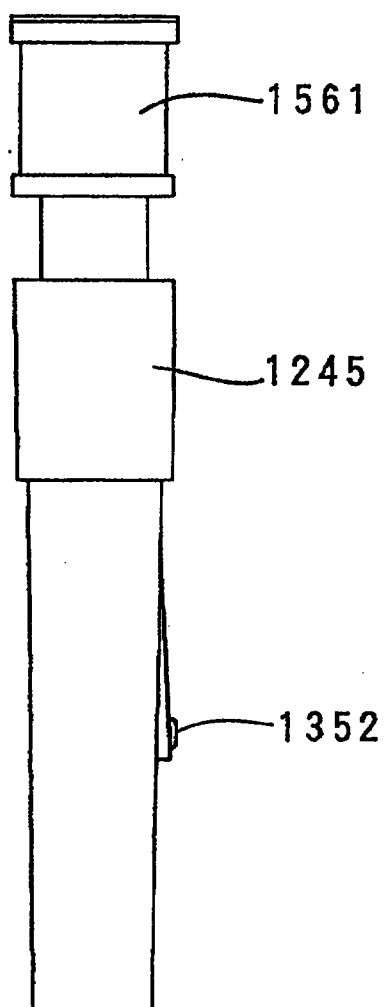


FIG. 67

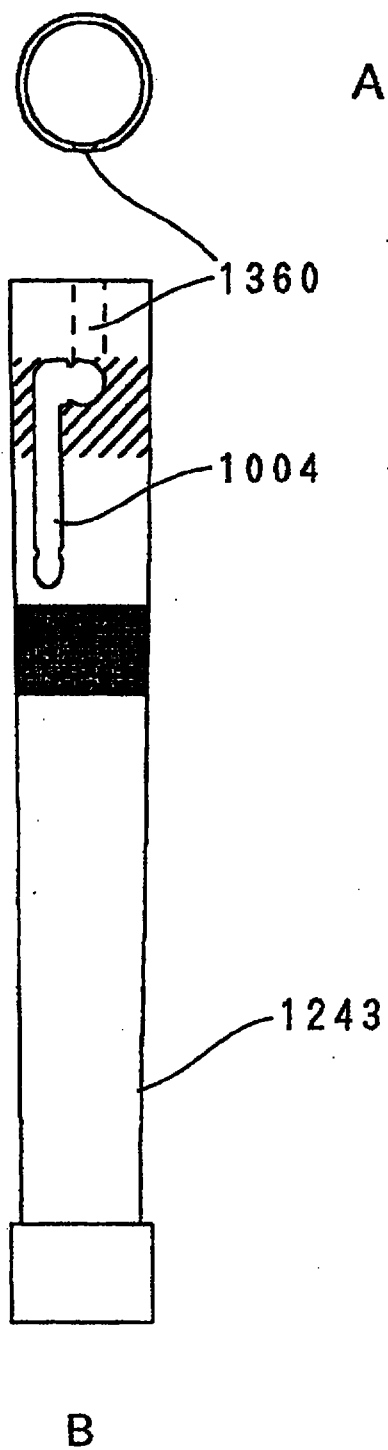


FIG. 68

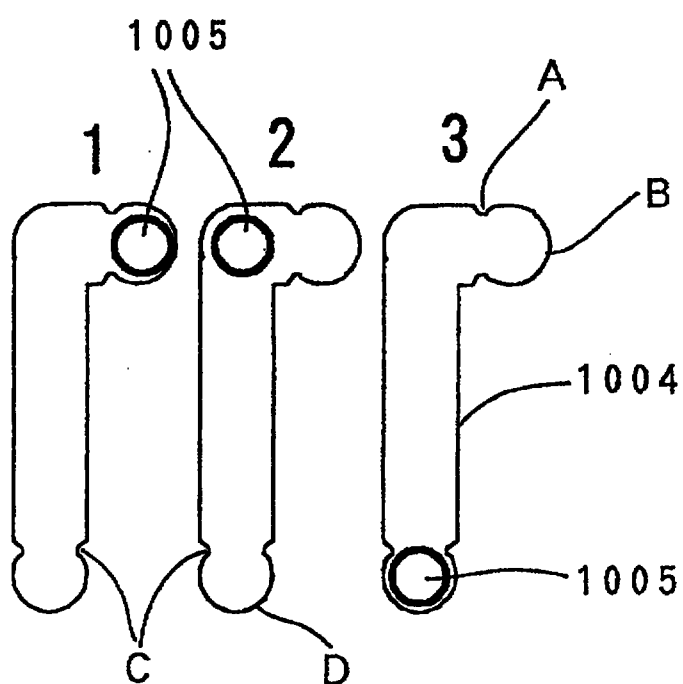
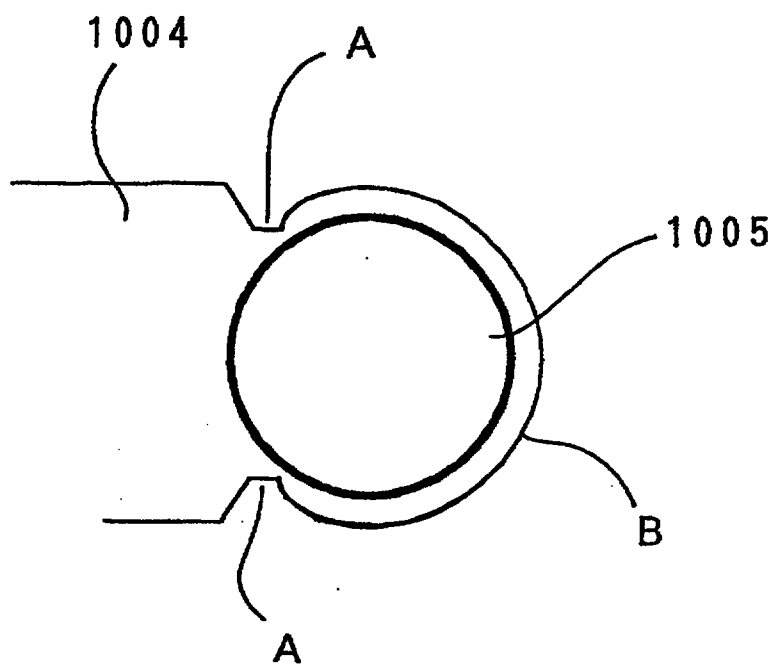


FIG. 69



a b c d



FIG. 70

60 / 61

FIG. 71

RELATION BETWEEN LIVING CELLS AND TURBIDITY

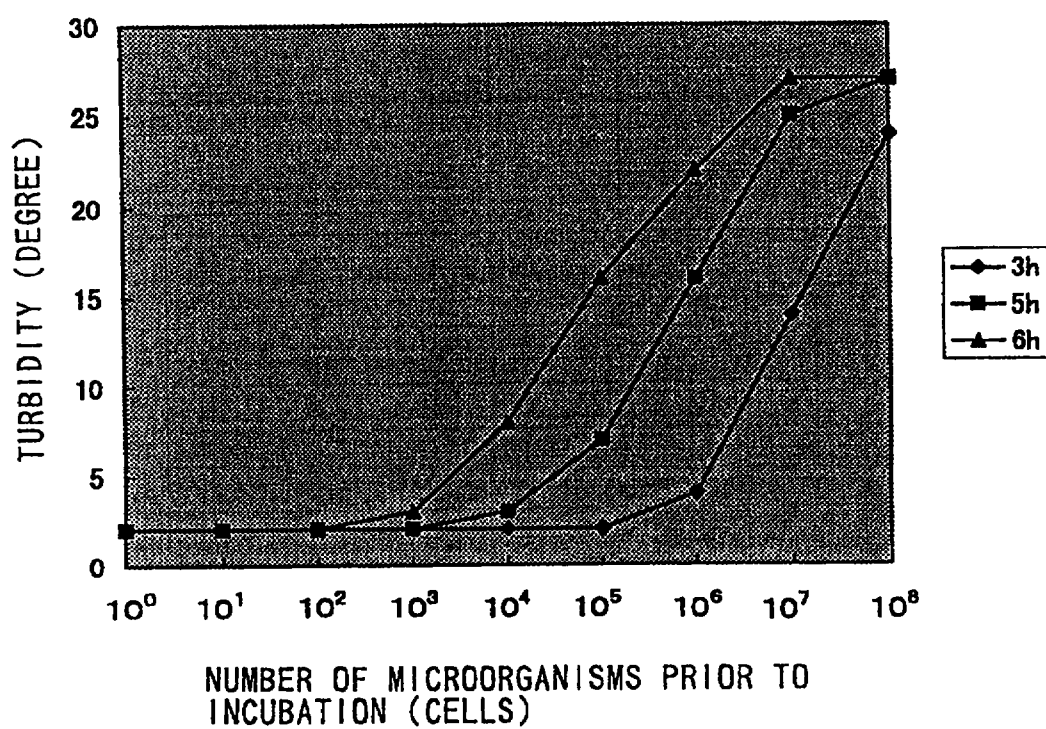
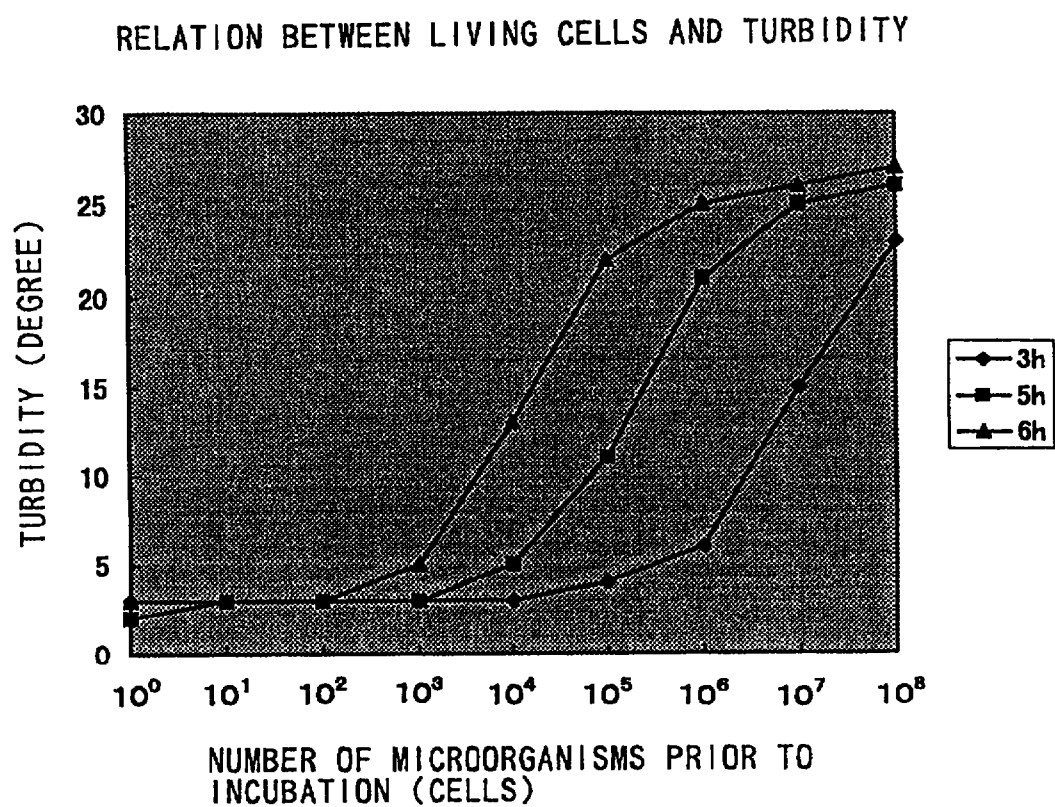


FIG. 72



COMPLETE SPECIFICATION

TO BE

FILED

IN

SINGAPORE

FOR

APPARATUS FOR DETECTING MICROORGANISM

PCT Patent Application No. PCT/JP97/04066
Based on Japanese Patent Applications
No. 8-309889, filed on November 7, 1996,
No. 9-51119, filed on February 20, 1997, and
No. 9-156094, filed on May 30, 1997,
in the name of SRL, Inc.

Applicant: SRL, Inc.
41-19, Akebono-cho 2-chome, Tachikawa-shi,
Tokyo 190-8567 JAPAN

Inventors: Toshihiko MIYAMOTO, a citizen of Japan¹
c/o Hachioji Laboratories of SRL, Inc.
51, Komiya-cho, Hachioji-shi, Tokyo 192-8535 JAPAN

Youji IKENO, a citizen of Japan
c/o Hachioji Laboratories of SRL, Inc.
51, Komiya-cho, Hachioji-shi, Tokyo 192-8535 JAPAN

Nobuo SHIMOSHIRO, a citizen of Japan
c/o Hachioji Laboratories of SRL, Inc.
51, Komiya-cho, Hachioji-shi, Tokyo 192-8535 JAPAN

Atsushi TAKAMATSU, a citizen of Japan
c/o SRL, Inc. 41-19, Akebono-cho 2-chome,
Tachikawa-shi, Tokyo 190-8567 JAPAN

Kazunori HOCHITO, a citizen of Japan
c/o Hachioji Laboratories of SRL, Inc.
51, Komiya-cho, Hachioji-shi, Tokyo 192-8535 JAPAN

Yoshihiko ABE, a citizen of Japan
c/o Hachioji Laboratories of SRL, Inc.
51, Komiya-cho, Hachioji-shi, Tokyo 192-8535 JAPAN

Jun-ichi SATAKE, a citizen of Japan
c/o Hachioji Laboratories of SRL, Inc.
51, Komiya-cho, Hachioji-shi, Tokyo 192-8535 JAPAN

APPARATUS FOR DETECTING MICROORGANISM

TECHNICAL FIELD

The present invention relates to an apparatus for selectively detecting microorganisms whereby pathogenic microorganisms, particularly food poisoning microorganism and drug-resistant microorganism such as methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) can be easily and simply detected and/or identified. More particularly it relates to an apparatus for a selective detection of microorganisms which is particularly suitable even for private and domestic use where its storage for long time can be expected, which can be immediately used at any time when needed, which has a portable form which can be conveniently and easily carried, which is possible for safely detecting and identifying a food poisoning microorganism or the like by a simple operation and which can be disposed safely, surely and easily after use.

BACKGROUND ART

Pathogenic microorganisms which are present in living environment have been considerably overcome due to a high development in medical service and progress in therapy in recent years particularly inventions and developments in antibacterials and antibiotics and, moreover, due to an improvement in hygiene. However, once they break out, big damage and fatal problem may result and they are still causes of big problems.

Examples of the pathogenic microorganisms which cause troubles when present around us are those causing food poisoning and those resistant to antibiotics such as methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) and the like. Thus, there are problems such as occurrence of a lot of patients infected by them and hospital infection.

Taking food and beverage or the "eating" action is essential for animals including human being and, therefore, in spite of progress in science and high development in technique in recent years, it is still difficult to completely prevent "food poisoning" caused by taking food and beverage. On the other hand, prevention of food poisoning as such has been more and more important because of the Product Liability Law which has been inaugurated recently.

Food poisoning is roughly classified into three depending upon its cause, i.e. that by natural poison (toxin) (such as swellfish poison (Tetraodontidae toxin) and mushroom poison), that by putrefaction of food and beverage (such as by decomposed products of food and beverage) and that by contamination by or proliferation of bacteria (such as Staphylococcus, Salmonella and Vibrio parahaemolyticus) in food and beverage. Among them, food poisoning by natural poison can be easily avoided by preventing the intake of food/beverage containing the causing poison. In addition, detection of putrefaction of food/beverage by means of checking the changes in appearance, smell, etc. is usually easy. Therefore, prevention of food poisoning due to putrefaction of food/beverage is relatively easy in many cases.

In contrast to those two types of food poisoning, contamination by or proliferation of the microorganism is usually invisible in the case of food poisoning by bacteria (that is, the bacterial food poisoning) and, moreover, detection of said contamination or proliferation is very difficult without participation of professional people. Accordingly, said bacterial food poisoning is a food poisoning which is most difficult to avoid.

Occurrence of food poisoning in facilities such as restaurants, caterers for luncheon and feeding facilities affects on significantly many people and, in addition, the symptom is serious such as severe vomiting, diarrhea, abdominal pain, high fever, etc. whereby it is apt to result in a particularly serious problem such as stop of business of said

facility for long term. Further problem is that, since the microorganism causing such food poisoning produces toxic substances such as enterotoxin in the body of infected patients, it is necessary to conduct a therapy after infection and, moreover, said therapy is very often accompanied by a difficulty.

Accordingly, it is quite necessary that the microorganism which is a cause of such a symptom is found at an early stage and that a due preventing measure such as disinfection is conducted for preventing the poisoning.

As a result of the use of antibacterials and antibiotics, occurrence of diseases, especially infectious diseases such as contagious disease, has significantly decreased. On the other hand, however, many resistant microorganisms have appeared as a secondary phenomenon resulting in a big problem. There is a problem that, when a powerful antibiotic substance is developed, resistance thereto occurs immediately and, in addition, hospital infection by such resistant microorganisms has become a big problem too. Since patients including those suffering from severe disease and aged people has a decreased resistance, microorganisms which are resistant to antibiotics cause a intractable infectious disease to them whereby, even when the infection is found, there will be no effective therapy and that is a big problem. For preventing the hospital infection caused by such resistant microorganisms, it is necessary to specify the causing microorganism in early stage of infection, to find its presence at an early date and to effectively and appropriately prevent the infection by means of disinfection, etc. Accordingly, it is necessary for hospitals to periodically check whether such microorganisms appear in the medical environment.

Up to now, there has been no means other than common preventing measures (such as keeping the cooking utensils, e.g. kitchen knife and chopping board, clean and also keeping hand

and fingers of the persons participating in cooking clean) for preventing the food poisoning. Even at present, when food poisoning occurs, only an ex posto facto measure (i.e. the causing microorganism is detected and confirmed by the search (by incubation of the suspected microorganism found in the food/beverage) of the public health center controlling the place where the poisoning occurred) is available.

In addition, detection and confirmation of the causing microorganism by the center as such usually require quite a long period (e.g., around one to two weeks). Further, the search by the public health center needs a "prescribed procedure" and, moreover, in view of honor or reputation (such as an entire loss of customers by "rumor"), such a procedure is not always fully activated. In another viewpoint of usual countermeasure, it is not always possible to detect and confirm so simply.

In the investigation at the professional organizations such as public health centers and hospitals, a method which has been adopted is that various samples as mentioned above and those collected from patients and from medical environment are incubated on agar plates using a selective medium and the colonies formed on the medium are observed by naked eye or that the microorganism incubated as such is confirmed by other detecting and confirming means. Recently, a judging method using polymerase chain reaction (PCR) has been adopted as well. However, the operations are troublesome in all of such conventional methods and, in judging the colonies grown on the agar medium, professional technique and skillfulness are needed for identification. In addition, professional technique and skillfulness as well as specific devices or the like are required for the operations from collection of the sample to its incubation and there is a disadvantage that total cost for the detection is high. Further, in the case of a method utilizing a PCR, it is again necessary to apply professional technique and skillfulness and there is another problem that, for certain microorganisms, discrimination of them from nonpathogenic ones is very

difficult.

For a device for solving these problems, an apparatus accommodating a liquid medium enclosed in a capsule and a tampon for collecting microorganisms in a capsule-container is proposed, for example, in Unexamined Japanese Patent Publication Sho 62-171671 (JP Sho 62-171671 A). Because such an apparatus contains pathogenic microorganisms after incubation, however, it is difficult to discard it. Therefore, in the prior art the used apparatus has been discarded after disinfecting steps, including opening the used container followed by addition of a disinfectant solution to the medium containing the microorganisms.

Although the apparatus has been brought into an open system, for example, by taking off a stopper, etc., in order to discard the incubation system containing the pathogenic microorganisms, such a treatment is not only troublesome and risky but also requires professional technique and great skill, even installations. Furthermore, since, in addition to the container for incubation, it is always necessary to prepare a disinfectant solution for the treatment, it is troublesome in view of portability and convenience in use.

SUMMARY OF THE INVENTION

An object of the present invention is to provide an apparatus (or device) for detecting microorganisms whereby pathogenic microorganisms such as those causing food poisoning and resistant microorganisms can be detected and identified by simple operations and, after use, said apparatus can be safely and conveniently disposed.

Another object of the present invention is to provide an apparatus for detecting microorganisms which can be not only used in hospitals but also used privately or at home and which can be disposed by anyone easily and safely.

Still another object of the present invention is to provide an apparatus for detecting microorganisms where its

handling is simple whereby it can be used at any time, previous or spontaneous countermeasure to pathogenic microorganisms can be made very easy and disposal of the apparatus after use can be made easily and safely.

The present inventors have conducted an intensive study and found that the following constitution is very effective in achieving the above-mentioned objects. Thus, the constitution is that the characteristic feature of a relatively convenient microorganism-detecting apparatus (wherein a medium which is to give an incubating condition suitable for the pathogenic microorganisms to be detected (such as specific microorganisms for food poisoning and microorganisms which are resistant to specific antibiotics) upon contacting and a microorganism-collecting part are located in a noncontact manner each other and, when incubation for detecting the microorganism is conducted, said specific medium and microorganism-collecting part are made contacted each other) is more fully utilized and, in addition, disposal (in some cases, disinfecting treatment) of the apparatus after use can be conducted safely and easily.

The apparatus for the detection of microorganisms in accordance with the present invention is based upon the above finding.

In one of its aspects, the present invention provides:

- (1) an apparatus for detecting microorganism, characterized in that, said apparatus comprises at least:
 - (a) a container for holding a medium which is used for culturing the microorganism to be detected during the period of the incubation of said microorganism,
 - (b) a part where the microorganism is collected,
 - (c) a means for allowing us to holding the medium for culturing the microorganism to be detected, in a noncontact manner with the microorganism-collecting part (b), until the incubating stage of the microorganism, and
 - (d) a means for disinfecting the medium after incubation;

(2) the apparatus for detecting microorganism according to the above (1) wherein the means (d) (means for disinfecting the medium after incubation) includes means for allowing a disinfectant to be held, without contact with the microorganism, until the completion of the incubation for the microorganism to be detected;

(3) the apparatus for detecting microorganism according to the above (1) or (2) wherein the medium and the disinfectant are made in such a manner that they can unitedly contact each other, by the action of a force applied from outside, after incubation of the microorganism;

(4) the apparatus for detecting microorganism according to any of the above (1) to (3) wherein the microorganism-collecting part (b) and the medium used for culturing the microorganism to be detected are made in such a manner that they can unitedly contact each other, by the action of a force applied from outside, during the incubation of the microorganism;

(5) the apparatus for detecting microorganism according to any of the above (1) to (4) wherein said apparatus contains:

(a) a hollow container having an opening at one of the ends,

(b) a microorganism-collecting part located in said hollow container,

(c) a medium for culturing the microorganism, said medium being located so as to contact said microorganism-collecting part during the incubation of the microorganism, and

(d) a disinfectant being located so as to contact the medium for culturing the microorganism after the incubation of the microorganism;

(6) the apparatus for detecting microorganism according to any of the above (1) to (5) wherein an antibiotic substance is added to said medium;

(7) the apparatus for detecting microorganism according to any of the above (1) to (6) wherein an antibiotic substance is contained, at least a part of said antibiotic

substance coming unitedly into contact with the medium, by the action of an external force, during the incubation of the microorganism, and at least said antibiotic substance and the medium being located in the storage container in a noncontact manner;

(8) the apparatus for detecting microorganism according to any of the above (1) to (7) wherein microorganisms are detected through incubating the microorganism in a medium and observing the changes in the medium, characterized in that said apparatus comprises

- (i) a microorganism-collecting part,
- (ii) an antibiotic substance,
- (iii) a medium and
- (iv) a disinfectant,

wherein at least a part of (i) the microorganism-collecting part, (ii) the antibiotic substance and (iii) the medium can unitedly contact each other, by the action of a force from outside, during the incubation of the microorganism, at least the above-mentioned antibiotic substance (ii) and the above-mentioned medium (iii) being located in a storage container in a noncontact manner, and

wherein, after incubation of the microorganism, at least the incubated microorganism and the disinfectant (iv) can unitedly contact each other by the action of a force from outside, at least the above-mentioned disinfectant (iv) and the above-mentioned medium (iii) being located in the storage container in a noncontact manner;

(9) the apparatus for detecting microorganism according to any of the above (1) to (5) and (7) to (8) wherein said antibiotic substance is

- (1) located in the above-mentioned container,
- (2) given to the above mentioned microorganism-collecting part or
- (3) coated on the inner wall of the above-mentioned container;

(10) the apparatus for detecting microorganism according to any of the above (1) to (5) and (7) to (9) wherein

said antibiotic substance is given to other materials located in said hollow container;

(11) the apparatus for detecting microorganism according to any of the above (1) to (5) and (7) to (9) wherein said microorganism-collecting part has a multiple structure containing at least an inside material and an outside material and said antibiotic substance is located in said inside material;

(12) the apparatus for detecting microorganism according to any of the above (1) to (11) wherein said medium contains a substance capable of changing its color according to the change caused by growth of the microorganism;

(13) the apparatus for detecting microorganism according to any of the above (1) to (12) wherein said container has a cover for tight closing and said medium is located in said cover in such a manner that it is enclosed in a bag-shaped member;

(14) the apparatus for detecting microorganism according to the above (13) wherein a perforated material is located between said bag-shaped member and said hollow container;

(15) the apparatus for detecting microorganism according to the above (14) wherein a guide member which can promote a fall of the medium descending along said microorganism-collecting part is located under said perforated material;

(16) the apparatus for detecting microorganism according to any of the above (1) to (15) wherein said apparatus has a incubation selectivity to at least one microorganism selected from the group consisting of pathogenic Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Vibrio parahaemolyticus and Salmonella;

(17) the apparatus for detecting microorganism according to any of the above (1) to (16) wherein said apparatus has a structure for allowing us to disinfect the medium used for the incubation under a tightly closed state; and

(18) the apparatus for detecting microorganism according to any of the above (1) to (17) wherein said apparatus has a structure for allowing us to conduct at least

- (i) addition of a medium into a container,
- (ii) incubation,
- (iii) visual detection of the microorganism cells, and
- (iv) disinfecting treatment of the incubated medium

under a tightly closed state after collecting treatment of the microorganism by the microorganism-collecting part.

The present invention further contemplates:

(19) an apparatus for detecting microorganism, characterized in that,

said apparatus consists of (i) a container having a space wherein a medium is received and the microorganism is cultured and (ii) a cover which engages with an opening of said container to tightly close (fasten or seal) the opening of the container from the surrounding atmosphere (outside),

said cover being a receptacle body having (A) a first bag-shaped member for holding (enclosing) the medium and (B) a second bag-shaped member for holding (enclosing) a disinfectant;

(a) said receptacle body being bestowed with a function for breaking the inner bag-shaped member by the action of a force applied from outside in order to take the content out of said bag-shaped member,

(b) said second bag-shaped member capable of being broken independently of said first bag-shaped member whereby the content in said second bag-shaped member is taken out;

(c) at or near a connecting portion of the cover engaged with the opening of said container, a partition being formed or a partition member being disposed for keeping said bag-shaped member in said cover;

(d) said partition or said partition member being equipped with a microorganism-collecting part which is positioned in a protruding manner at the side of a space of said container for receiving the medium and culturing the microorganism therein;

(e) wherein the end of said microorganism-collecting part can contact said medium in such a manner that it is possible to culture the microorganism when said container receives the medium; and

(f) wherein one or more through holes are formed in said partition or said partition member so that the medium and the disinfectant can flow between said cover and said container;

(20) the apparatus for detecting microorganism according to the above (19), characterized in that,

each of the first and the second bag-shaped members is a glass ampule,

the cover is made of a flexible material and,

even when a force from outside (an external force) is applied to said cover for breaking said first bag-shaped member to take out the medium which is a content therein, said second bag-shaped member is not damaged but the disinfectant which is a content therein can be kept as stored;

(21) the apparatus for detecting microorganism according to the above (19), characterized in that,

the cover is composed of a first section for receiving the first bag-shaped member and a second section for receiving the second bag-shaped member,

said first section being installed with a first pushing-down member for breaking said first bag-shaped member and

said second section being installed with a second pushing-down member for breaking said second bag-shaped member.

(22) the apparatus for detecting microorganism having a structure as shown in any of FIGS. 6 to 11 or characterized in having substantially the same function concerning the bactericidal treatment of the incubated microorganism culture;

(23) An apparatus for detecting microorganism according to the above (19), characterized in that

the cover is composed of:

(a) a first cover-constituting member which constitutes a first section for receiving the first bag-shaped member,

(b) a second cover-constituting member which constitutes

a second section for receiving the second bag-shaped member, and

(c) a cap member being located at one end of said second cover-constituting member and at the opposite side of the fitting side (of said second cover-constituting member) for said first cover-constituting member and slidably fitted into said second cover-constituting member,

wherein, at or near each end of the first and second cover-constituting members, each end being at the side of said container having a space for receiving the medium to culture the microorganism therein, a partition is formed or a member for the partition is disposed for keeping each of said bag-shaped members;

said first cover-constituting member being slidably engaged with one end of said second cover-constituting member wherein said first bag-shaped member can be broken to release the medium contained therein by sliding said second cover-constituting member to the side of said first cover-constituting member by a force from outside (external force),

wherein said second bag-shaped member can be broken to release a disinfectant contained therein by sliding said cap member to the side of said second cover-constituting member by a force from outside (external force), and

wherein one or more through holes are formed in said partition or said partition member in a manner that the medium and the disinfectant can be communicated with said container;

(24) the apparatus for detecting microorganism according to the above (23), characterized in that,

an engagement of said first cover-constituting member with one end of said second cover-constituting member is achieved by means of a screw and a force is generated by rotating the main body of said second cover-constituting member against said first cover-constituting member by a force from outside (external force) whereby said first bag-shaped member can be broken to release the medium which is a content therein;

(25) the apparatus for detecting microorganism according to the above (23), characterized in that,

an engagement of said second cover-constituting member

with said cap member is achieved by means of a screw and an external force is generated by rotating said cap member against said second cover-constituting member whereby said second bag-shaped member can be broken to release the disinfectant which is a content therein;

(26) the apparatus for detecting microorganism according to the above (24), characterized in that,

the first and second cover-constituting members are constituted from a cylindrical body;

(27) the apparatus for detecting microorganism having an arrangement as shown in FIG. 12 or FIG. 13 or characterized in having substantially the same function concerning the bactericidal treatment of the cultured microorganism;

(28) the apparatus for detecting microorganism according to the above (19), characterized in that,

the cover is composed of:

(a) a first cover-constituting member which has a first section housing a first bag-shaped member and a second section receiving a second cover-constituting member housing a second bag-shaped member,

(b) said second cover-constituting member and

(c) a cap member which is slidably engaged with one end of said second cover-constituting member and is located thereon at the opposite side of the container having a space for receiving said medium to culture the microorganism therein;

wherein, at or near each end of the first and second cover-constituting members, each end being at the side of said container having a space for receiving the medium to culture the microorganism therein, a partition is formed or a member for the partition is disposed for keeping each of said bag-shaped members;

said first cover-constituting member being slidably engaged with one end of said second cover-constituting member wherein said first bag-shaped member can be broken to release the medium contained therein by sliding said second cover-constituting member to the side of said first cover-constituting

member by a force from outside (external force),

wherein said second bag-shaped member can be broken to release a disinfectant contained therein by sliding said cap member to the side of said second cover-constituting member by a force from outside (external force), and

wherein one or more through holes are formed in said partition or said partition member in a manner that the medium and the disinfectant can be communicated with said container;

(29) the apparatus for detecting microorganism according to the above (28), characterized in that,

an engagement of said first cover-constituting member with a portion of said second cover-constituting member is achieved by means of a screw and a force is generated by rotating the main body of said second cover-constituting member against said first cover-constituting member by a force from outside (external force) whereby said first bag-shaped member can be broken to release the medium which is a content therein;

(30) the apparatus for detecting microorganism according to the above (28), characterized in that,

an engagement of said second cover-constituting member with said cap member is achieved by means of a screw and an external force is generated by rotating said cap member against said second cover-constituting member whereby said second bag-shaped member can be broken to release the disinfectant which is a content therein;

(31) the apparatus for detecting microorganism according to the above (28), characterized in that,

the first and second cover-constituting members are constituted from a cylindrical body;

(32) the apparatus for detecting microorganism according to the above (28), characterized in that;

most of the main body of the second cover-constituting member is housed in the first cover-constituting member;

(33) the apparatus for detecting microorganism as shown in FIG. 14 or characterized in having a function substantially equivalent thereto concerning the bactericidal treatment of the incubated microorganism;

(34) the apparatus for detecting microorganism according to the above (19), characterized in that,

said cover is composed of:

(a) a receptacle body receiving both of a first bag-shaped member and a second bag-shaped member in parallel and

(b) two tools for destroying, said tools being slidably engaged with the top of said receptacle body at the opposite side of the container having a space for receiving said medium to culture the microorganism,

wherein said destroying tools are independently pushed into said receptacle body by sliding by means of a force from outside where, first, the first destroying tool can break said first bag-shaped member to release the medium contained therein and then the second destroying tool can break said second bag-shaped member to release the disinfectant contained therein, and

wherein through holes are made in said partition or said partition member so that the medium and the disinfectant can be communicated with the container;

(35) the apparatus for detecting microorganism according to the above (34), characterized in that,

said destroying tools are disposed in such a manner that they can be pushed into the top of said receptacle body by means of a force from outside;

(36) the apparatus for detecting microorganism according to the above (34), characterized in that,

said destroying tools are disposed in such a manner that they can be pushed into the top of said receptacle body in a screwing manner.

(37) the apparatus for detecting microorganism according to the above (34), characterized in that,

the outer appearance of said receptacle body is of a structure similar to a rectangular parallelepiped.

(38) the apparatus for detecting microorganism as shown in FIG. 15 or characterized in having a function substantially equivalent thereto concerning the bactericidal treatment of the incubated microorganism;

(39) the apparatus for detecting microorganism

according to the above (19), characterized in that
the cover consists of:

a receptacle body receiving a first bag-shaped member
and a second bag-shaped member in parallel,

said receptacle body consisting of a holding member
which constitutes a holding section capable of regulating the
position of said bag-shaped member and a movable material which
constitutes a movable section being rotatable by a force from
outside against said holding section,

wherein a destroying tool for breaking said bag-shaped
member is installed on the inner side of said receptacle body,

wherein, when the movable material is rotated, any of said
first bag-shaped member and said second bag-shaped member can
be independently broken by said destroying tool, and

wherein through holes are made in said partition or said
partition member so that the medium and the disinfectant can be
communicated with the container;

(40) the apparatus for detecting microorganism
according to the above (39), characterized in that,

a destroying tool is installed on the inner side of the
movable material in said receptacle body;

(41) the apparatus for detecting microorganism
according to the above (39), characterized in that,

said receptacle body is of a cylindrical shape and,

when the movable material of said receptacle body is
rotated, any of said first bag-shaped member and said second
bag-shaped member can be independently broken depending upon
the direction of rotation; and

(42) the apparatus for detecting microorganism as
shown in FIG. 16 or characterized in having substantially the
same function concerning the bactericidal treatment of the
incubated microorganism.

The present invention further provides:

(43) an apparatus for detecting microorganism,
characterized in that

said apparatus comprises:

(a) a hollow container in a cylindrical shape for holding a medium used for culturing the microorganism to be detected during the incubation of the microorganism,

(b) a microorganism-collecting part comprising a rod-like material and a microorganism-collecting end and

(c) a cover equipped with the microorganism-collecting part wherein said cover stores at least two bag-shaped members where the first bag-shaped member is to receive the medium while the second one is to receive a disinfectant (bactericide), and

wherein (d) the medium enclosed in the first bag-shaped member can get in touch with the said microorganism-collecting end without detaching the cover which closes the opening of said hollow container (a) and the disinfectant/bactericide enclosed in the second bag-shaped member can get in touch with the microorganism in said hollow container to perform a disinfecting/bactericidal treatment;

(44) the apparatus for detecting microorganism according to the above (43), characterized in that,

the cover is constituted from a material which can be easily deformed by a force from outside and the first and second bag-shaped members can be easily broken by a force from outside to discharge the liquid content;

(45) the apparatus for detecting microorganism according to the above (43), characterized in that,

the cover has a partition member at the side of the connecting part with the hollow container and said partition member has an action of receiving and holding the first and the second bag-shaped members in the cover;

(46) the apparatus for detecting microorganism according to the above (43), characterized in that,

the partition member is capable of engaging with said cover at the side of the part (of the cover) connecting with the hollow container; and

(47) the apparatus for detecting microorganism according to the above (43), characterized in that,

the cover is constituted in such a manner that each of the

first and second bag-shaped members is independently broken by a force from outside so that the liquid content can be discharged.

The present invention further provides:

(48) the apparatus for detecting microorganism according to the above (19), characterized in that, said cover is composed of:

(a) a first cover-constituting member which constitutes a first section receiving and holding a first bag-shaped member,

(b) a second cover-constituting member which constitutes a second section receiving and holding a second bag-shaped member and

(c) a cap member which is rotatably screw-fitted at one end of said second cover-constituting member, said cap member being located at the side thereof opposite to the connected side for said first cover-constituting member,

wherein either a partition is formed or a member for the partition is disposed for keeping each of said bag-shaped members at or near the end of each container of the first and the second cover-constituting members having a space for receiving the medium to culture the microorganism therein,

wherein said first cover-constituting member is slidably fixed with one end of said second cover-constituting member and said second cover-constituting member can be slid to the side of said first cover-constituting member by a force from outside so that said first bag-shaped member would be broken to release the medium contained therein,

wherein said cap member can be rotated by a force from outside to push into the side of said second cover-constituting member so that said bag-shaped member would be broken to release a disinfectant contained therein, and

wherein through holes are formed in said partition or said partition member so that the medium and the disinfectant can be communicated with the space;

(49) the apparatus for detecting microorganism

according to the above (48), characterized in that,

an engagement of said first cover-constituting member with one end of said second cover-constituting member is secured by means of uneven plane (indented surface: 凹凸, including a recess and a protruding portion) made on the contacting surfaces between the members and, when the body of said second cover-constituting member is slid by a force from outside to the side of said cover-constituting member, said first bag-shaped member can be broken whereby the medium contained therein can be taken out.

(50) the apparatus for detecting microorganism according to the above (48), characterized in that,

an engagement of said second cover-constituting member with said cap member is in a screw-fixed manner and, when said cap member can be rotated to said second cover-constituting member by a force from outside and pushed into a side of the container whereby said second bag-shaped member would be broken to discharge the disinfectant contained therein;

(51) the apparatus for detecting microorganism according to the above (48), characterized in that,

the first and second cover-constituting members are constituted from a cylindrical body;

(52) the apparatus for detecting microorganism as shown in FIG. 17 or FIG. 18 or that which is characterized in having substantially the same function concerning the bactericidal treatment of the incubated microorganism;

(53) the apparatus for detecting microorganism according to the above (52), equipped with a cap member having the structure as shown in FIG. 19 or FIG. 20 or that which is characterized in having substantially the same function;

(54) the apparatus for detecting microorganism according to the above (52), equipped with a cover-constituting member having the structure as shown in FIG. 22 or FIG. 23 or that which is characterized in having substantially the same function;

(55) the apparatus for detecting microorganism according to the above (52), equipped with a cover-constituting

member having the structure as shown in FIG. 26 or FIG. 27 or that which is characterized in having substantially the same function;

(56) the apparatus for detecting microorganism according to the above (48), characterized in that,

one or more convex parts on the side of said first cover-constituting member are formed as a structure having different installing regions, such as 781, 782, and

one or more concave parts suitably engaged with said convex part(s) are formed on the contacting surface of said second cover-constituting members, said contacting surface being contacting the first cover-constituting member,

wherein, before use, it is possible to engage said first cover-constituting member with the second cover-constituting members in such a manner that said concave part is not inserted into said convex part whereby said second cover-constituting member would be fixed within said first cover-constituting member in a nonsliding manner, and, upon use, it is possible to gear said convex part into said concave part by rotating said second cover-constituting member or the like, to ensure an engagement of said first cover-constituting member with one end of said second cover-constituting member by means of concaves and convexes made on the contacting surfaces thereof and, to slide the body of said second cover-constituting member to the side of said first cover-constituting member by means of a force from outside whereby said first bag-shaped member would be broken and the medium contained therein is taken out;

(57) the apparatus for detecting microorganism according to the above (56), characterized in being equipped with a cover-constituting member having the structure as shown in FIGS. 36 to 40 or that which has substantially the same function; and

(58) the apparatus for detecting microorganism according to the above (56), characterized in being equipped with a cover-constituting member having the structure as shown in FIGS. 41 to 44 or that which has substantially the same function.

Still another aspect of the present invention is to provide:

(59) the apparatus for detecting microorganism according to any of the above (1) to (58), comprising a medium selected from the group consisting of:

(a) a medium for Salmonella having a composition substantially containing an appropriate amount, such as 3 to 7 g, of tryptone, an appropriate amount, such as 1 to 6 g, of yeast extract, an appropriate amount, such as 5 to 15 g, of lysine, an appropriate amount, such as 0.5 to 2 g, of glucose, an appropriate amount, such as 7 to 9 g, of sodium chloride, an appropriate amount, such as 1.0 to 2.0 g, of monopotassium dihydrogen phosphate, an appropriate amount, such as 0.1 to 0.3 g, of sodium thiosulfate, an appropriate amount, such as 0.2 to 0.4 g, of ammonium iron citrate, an appropriate amount, such as 15 to 25 g, of magnesium chloride, an appropriate amount, such as 27 to 33 ml, of 0.4% Malachite Green solution and an appropriate amount, such as 0.01 to 0.03 g, of Bromocresol Purple per 1,000 ml of the medium (pH of the medium being about 5.3 to 5.7);

(b) a medium for Vibrio parahaemolyticus having a composition substantially containing an appropriate amount, such as 25 to 40 g, of a salt polymyxin broth (the salt polymyxin broth contains an appropriate amount of yeast extract, an appropriate amount of peptone, an appropriate amount of sodium chloride and an appropriate amount polymyxin B), an appropriate amount, such as 15 to 25 g, of mannitol, an appropriate amount, such as 5 to 10 g, of sodium citrate, an appropriate amount, such as 0.1 to 0.3 g, of sodium thiosulfate and an appropriate amount, such as 0.01 to 0.03 g, of Bromocresol Purple per 1,000 ml of the medium (pH of the medium being about 7.0 to 7.4);

(c) a medium for Escherichia coli group having a composition substantially containing an appropriate amount, such as 26 to 43 g, of a lauryl sulfate broth (the lauryl sulfate broth contains an appropriate amount of tryptose, an

appropriate amount of lactose, an appropriate amount of monopotassium dihydrogen phosphate, an appropriate amount of dipotassium monohydrogen phosphate, an appropriate amount of sodium chloride and an appropriate amount of sodium lauryl sulfate), an appropriate amount, such as 3 to 8 g, of lactose and an appropriate amount, such as 0.03 to 0.05 g, of Bromthymol Blue or Bromocresol Purple per 1,000 ml of the medium (pH of the medium being about 6.75 to 7.25); and

(d) a medium for Staphylococcus having a composition substantially containing an appropriate amount, such as 5 to 15 g, of tryptone, an appropriate amount, such as 2 to 8 g, of yeast extract, an appropriate amount, such as 5 to 15 g, of mannitol, an appropriate amount, such as 2 to 8 g, of dipotassium monohydrogen phosphate, an appropriate amount, such as 5 to 6 g, of lithium chloride, an appropriate amount, such as 12 to 20 g, of glycine, an appropriate amount, such as 10 to 14 g, of sodium pyruvate, an appropriate amount, such as 12 to 18 ml, of 1% aqueous potassium tellurite solution and an appropriate amount, such as 0.02 to 0.03 g, of Phenol Red per 1,000 ml of the medium (pH of the medium being about 7.25 to 7.75);

(60) the apparatus for detecting microorganism according to any of the above (48) to (58), characterized in using a medium selected from the improved media described in Example 11; and

(61) the apparatus for detecting microorganism according to the above (1), characterized in that,

after collecting the sample for incubation by means of the microorganism-collecting part, all steps:

- (a) supply of the medium into a container,
- (b) incubation of the microorganism on the medium in the container,
- (c) detection and/or finding of the microorganisms and
- (d) disinfection and/or sterilization of the medium in the container after incubation

can be conducted in a substantially tightly closed system and

said apparatus is portable.

Another aspect of the present invention is to provide:

(62) the apparatus for detecting microorganism according to any of the above (1) to (5) wherein microorganisms are detected through incubating the microorganism in a medium and observing the changes in the medium, characterized in that said apparatus comprises

- (i) a microorganism-collecting part,
- (ii) a medium and
- (iii) a disinfectant,

wherein at least a part of (i) the microorganism-collecting part and (ii) the medium can unitedly contact each other, by the action of the force from outside, during the incubation of the microorganism, the above-mentioned microorganism-collecting part (i) and the above-mentioned medium (ii) being at least located in a storage container in a noncontact manner, and

wherein, after incubation of the microorganism, at least the incubated microorganism and the disinfectant (iii) can unitedly contact each other by the action of the force from outside, at least the above-mentioned disinfectant (iii) and the above-mentioned medium (ii) being located in the storage container in a noncontact manner;

(63) the apparatus for detecting microorganism according to any of the above (1) to (62) wherein said container comprises a cover for closing an opening, said cover accommodating a bag-shaped member which encloses said medium;

(64) the apparatus for detecting microorganism according to any of the above (1) to (63) wherein said container comprises a cover member for closing an opening, said cover accommodating a bag-shaped member which encloses said disinfectant;

(65) the apparatus for detecting microorganism according to any of the above (1) to (64) wherein said cover has a structure for allowing it to hold and carry at least

- (i) a first bag-shaped member containing a medium, and

(ii) a second bag-shaped member containing a disinfectant independently each other;

(66) the apparatus for detecting microorganism according to any of the above (1) to (65) wherein said cover comprises at least

(i) a first cover-constituting member accommodating the first bag-shaped member, and

(ii) a second cover-constituting member accommodating the second bag-shaped member;

(67) the apparatus for detecting microorganism according to any of the above (1) to (66), comprising

a means for protection and engagement, being disposed in said first and second cover-constituting members so as not break the first bag-shaped member by moving the second cover-constituting member prior to use;

(68) the apparatus for detecting microorganism according to any of the above (1) to (67), wherein said second cover-constituting member is equipped with a cap member and a means for protection and engagement is disposed in said second cover-constituting member and said cap member so as not to break the second bag-shaped member by moving the cap member prior to use;

(69) the apparatus for detecting microorganism according to the above (67) or (68), wherein said means for protection and engagement is a combination of a stopper (1005, 1008) and a guide (1004, 1007);

(70) the apparatus for detecting microorganism according to any of the above (67) to (69), wherein said guide has a shape selected from the group consisting of shape a, b, c and d as shown in FIG. 70;

(71) the apparatus for detecting microorganism having a structure as shown in any of FIGS. 53 to 64 or characterized in having substantially the same function concerning the bactericidal treatment of the incubated microorganism culture;

(72) a method for quantitatively measuring the number of viable microorganism cells in a sample or specimen

through using the apparatus for detecting microorganism according to any of the above (1) to (58) and (60) to (70);

(73) the method according to the above (72), wherein the measurement is carried out in a closed system after collecting a microorganism to be measured and transferring it into the apparatus according to any of the above (1) to (58) and (60) to (70); and

(74) the method according to the above (72) or (73), wherein the target is the number of viable microorganism cells prior to incubation.

The above objects and other objects, features, and advantages of the present invention are readily apparent from the following detailed description of the best mode for carrying out the invention when taken in connection with the accompanying drawings.

BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

Referring to the several drawing figures, wherein like numerals refer to like parts throughout, and wherein:

FIG. 1 is a schematic side cross section showing an embodiment of the microorganism-detecting apparatus of the present invention;

FIG. 2 is a scheme showing an example of how to use the microorganism-detecting apparatus of FIG. 1;

FIG. 3 is a scheme showing an example of how to use the microorganism-detecting apparatus of FIG. 1;

FIG. 4 is a schematic side cross section showing another embodiment of the microorganism-detecting apparatus of the present invention;

FIG. 5 is a schematic side cross section showing another embodiment of the microorganism-detecting apparatus of the present invention;

FIG. 6 shows another embodiment of the microorganism-detecting apparatus of the present invention where the cross-

sectional shape of the apparatus is mainly illustrated;

FIG. 7 mainly shows the outer shape of the apparatus of FIG. 6;

FIG. 8 shows the outer shape of the container part supplying a space for incubation of microorganism in the apparatus of FIG. 6;

FIG. 9 shows the cross-sectional structure of the container part supplying the space for incubation of microorganism in the apparatus of FIG. 6 wherein (a) is a shape from its upside while (b) is a shape from its side;

FIG. 10 shows an outer shape of the cover part of the apparatus of FIG. 6 wherein (a) is a shape from its downside, (b) is a shape from its side, and (c) is a shape from its upside;

FIG. 11 shows a cross-sectional structure of the cover part of the apparatus of FIG. 6;

FIG. 12 shows another embodiment of the microorganism-detecting apparatus of the present invention where the outer shape is illustrated;

FIG. 13 shows another embodiment of the microorganism-detecting apparatus of the present invention where the cross-sectional shape of the apparatus of FIG. 12 is illustrated;

FIG. 14 shows another embodiment of the microorganism-detecting apparatus of the present invention where (a) is a ring (77), (b) is a view from the side of the microorganism-detecting apparatus consisting of container and cover, and (c) is a cross-sectional shape of the cover part equipped with (73) and (74);

FIG. 15 shows another embodiment of the microorganism-detecting apparatus of the present invention where (a) is a shape from its upside while (b) is a shape from its side;

FIG. 16 shows another embodiment of the microorganism-detecting apparatus of the present invention where (a) is a cross-sectional shape of the part corresponding to the cover-constituting member (112), (b) is a cross-sectional shape of the part corresponding to the cover-constituting member (102) and (c) is a shape from the side of the microorganism-detecting

apparatus;

FIG. 17 shows another embodiment of the microorganism-detecting apparatus of the present invention where the outer shape is illustrated;

FIG. 18 shows a cross-sectional shape of the apparatus of FIG. 17;

FIG. 19 shows an outer shape of a cap member (561) which constitutes the apparatus of FIG. 17;

FIG. 20 shows a cross-sectional shape of a cap member (561) of FIG. 19;

FIG. 21 shows a cross-sectional shape along I-I' of the cross sectional view of FIG. 20;

FIG. 22 shows an outer shape of the cover-constituting member (247) which constitutes the apparatus of FIG. 17;

FIG. 23 shows a cross-sectional shape of the cover-constituting member (247) of FIG. 22;

FIG. 24 shows an outer appearance of the cover-constituting member (247) of FIG. 22 from the direction of II;

FIG. 25 shows an outer appearance of the cover-constituting member (247) of FIG. 22 from the direction of III;

FIG. 26 shows an outer shape of the cover-constituting member (243) which constitutes the apparatus of FIG. 17;

FIG. 27 shows a cross-sectional shape of the cover-constituting member (243) of FIG. 26;

FIG. 28 shows an outer appearance of the cover-constituting member (243) of FIG. 26 from the direction of IV;

FIG. 29 shows an outer appearance of the cover-constituting member (243) of FIG. 26 from the direction of V;

FIG. 30 shows an outer shape of the container (241) which constitutes the apparatus of FIG. 17;

FIG. 31 shows a cross-sectional shape of the container (241) of FIG. 30;

FIG. 32 shows an outer appearance of the container (241) of FIG. 30 from the direction of VI;

FIG. 33 shows a cross sectional shape along G-G' in the cross section of FIG. 31, wherein a cross section of the microorganism-collecting end (246b) is illustrated

at its central portion;

FIG. 34 is a scheme of composition of the materials which constitute the microorganism-detecting apparatus of the present invention;

FIG. 35 shows an embodiment of the microorganism-detecting apparatus of the present invention and a cross-sectional shape is shown here;

FIG. 36 shows an outer shape of the cover-constituting member (747) of FIG. 35;

FIG. 37 is a cross-sectional view taken along lines M-M' of the cover-constituting member (747) of FIG. 36;

FIG. 38 shows an outer shape of the cover-constituting member (747) of FIG. 36 from the direction of VII;

FIG. 39 shows an outer shape of the cover-constituting member (747) of FIG. 36 from the direction of VIII;

FIG. 40 shows a cross-sectional shape of the cover-constituting member (747) of FIG. 36;

FIG. 41 shows a cross-sectional shape of the cover-constituting member (743) of FIG. 35;

FIG. 42 shows an outer shape of the cover-constituting member (743) of FIG. 41 from the direction of IX;

FIG. 43 shows an outer shape of the cover-constituting member (743) of FIG. 41 from the direction of X;

FIG. 44 shows a cross-sectional shape of the cover-constituting member (743) of FIG. 41;

FIG. 45 is a cross-sectional view taken along lines N-N' of the cover-constituting member (743) of FIG. 44 ;

FIG. 46 is a cross-sectional view taken along lines P-P' of the cover-constituting member (743) of FIG. 44;

FIG. 47 is a cross-sectional view taken along lines Q-Q' of the cover-constituting member (743) of FIG. 44;

FIG. 48 is an oblique outer view of the cover-constituting member (743) of FIG. 41 which is made of a transparent (or translucent) stuff; and

FIG. 49 is a conceptional view showing the relation between the cover-constituting member (743) and that (747) shown in FIG. 35 by showing a small convex ridge (781) and

a shallow concave groove (777). This is a state before incubation is started.

FIG. 50 is a conceptional view showing the relation between the cover-constituting member (743) and that (747) shown in FIG. 35 by showing a small convex ridge (781) and a shallow concave groove (777). This shows an operation when incubation is started.

FIG. 51 is a conceptional view showing the relation between the cover-constituting member (743) and that (747) shown in FIG. 35 by showing a small convex ridge (781) and a shallow concave groove (777). This is a state when the cover-constituting member (747) is pushed until a position where an ampule (744) is broken.

FIG. 52 shows a structure of a connecting part with a container in a cover-constituting member (e.g., 743) by means of a partial cross section.

FIG. 53 is a perspective view of an embodiment of the microorganism-detecting apparatus according to the present invention.

FIG. 54 illustrates perspectively the assembling of the parts 1245 (and 1561) and 1243 for the microorganism-detecting apparatus of FIG. 53.

FIG. 55 is a perspective view of an embodiment of the microorganism-detecting apparatus according to the present invention.

FIG. 56 illustrates perspectively the assembling of the parts 1245 (and 1561) and 1243 for the microorganism-detecting apparatus of FIG. 55.

FIG. 57 is a perspective view of an embodiment of the microorganism-detecting apparatus according to the present invention.

FIG. 58 illustrates perspectively the assembling of the parts 1561 and 1245 for the microorganism-detecting apparatus of FIG. 57.

FIG. 59 is a perspective view of an embodiment of the microorganism-detecting apparatus according to the present invention.

FIG. 60 illustrates perspectively the assembling of the parts 1561 and 1245 for the microorganism-detecting apparatus of FIG. 59.

FIG. 61 is a perspective view of an embodiment of the microorganism-detecting apparatus according to the present invention.

FIG. 62 illustrates perspectively the assembling of the parts 1561, 1245 and 1243 for the microorganism-detecting apparatus of FIG. 61.

FIG. 63 is a perspective view of an embodiment of the microorganism-detecting apparatus according to the present invention.

FIG. 64 illustrates perspectively the assembling of the parts 1561, 1245 and 1243 for the microorganism-detecting apparatus of FIG. 63.

FIG. 65 is a side view of the members (1561, 1245) for an embodiment of the microorganism-detecting apparatus according to the present invention (A: front view and B: side view).

FIG. 66 is a side view of the members (1561, 1245) for an embodiment of the microorganism-detecting apparatus according to the present invention.

FIG. 67 shows schematically the member 1243 capable of engaging with the member (1245) as illustrated in FIG. 65 (A: top view and B: front side view).

FIG. 68 is a schematic diagram for explaining the relation between a guide portion (1004) and a stopper (1005) for an embodiment of the microorganism-detecting apparatus according to the present invention.

FIG. 69 illustrates schematically the enlarged engagement of a guide portion (1004) with a stopper (1005) at the site B for an embodiment of the microorganism-detecting apparatus according to the present invention.

FIG. 70 illustrates various shapes for the guides (1004, 1007) for a protecting and engaging means in an embodiment of the microorganism-detecting apparatus according to the present invention.

FIG. 71 is a graph showing the relation between the number of viable Staphylococcus aureus cells and measured turbidity data when the microorganism was cultured in an embodiment of the microorganism-detecting apparatus according to the present invention.

FIG. 72 is a graph showing the relation between the number of viable Escherichia coli cells and measured turbidity data when the microorganism was cultured in an embodiment of the microorganism-detecting apparatus according to the present invention.

Explanation of the symbols (numerals) used is as follows:

- 1, 21, 41, 61, 81, 101, 241 and 741: main body of container
- 2, 22, 42, 62, 82, 102 and 242: cover
- 3: medium
- 4, 24, 44, 64 (or 68), 84, 104, 244 and 744: first bag-shaped member
- 6, 26, 46, 66, 86, 106, 246 and 746: microorganism-collecting member (part)
- 6a, 26a, 46a, 66a, 86a, 106a, 246a and 746a: rod-shaped element (stem)
- 5 and 296: first partition member
- 15 and 235: second partition members
- 6b, 26b, 46b, 66b, 86b, 106b, 246b and 746b: microorganism-collecting end
- 7: disk member impregnated with antibiotic substance
- 9: disinfectant/sterilizer
- 20: guide member
- 11, 59, 79, 89, 109, 259 and 776: connecting part of the container with the cover
- 8, 28, 48, 68 (or 64), 88, 108, 248 and 748: second bag-shaped member

BEST MODE FOR CARRYING OUT THE INVENTION

The present invention relates to an apparatus for the detection of microorganisms which is particularly portable or is able to be carried easily, said apparatus being capable of initiating the incubation of the microorganism immediately at the place where the microorganism is collected and/or being capable of starting in the incubation of the microorganism without skillfulness. It is understood that the apparatus for detecting microorganisms in accordance with the present invention includes all things having the function that it is relatively in a small size, portable and, after incubation of the microorganism, able to conduct even the steps until the disposal of the used apparatus in a substantially tightly closed system concerning said incubated microorganism.

The term "substantially tightly closed system" used here means that, although it is possible to incubate, find or detect the microorganism and to disinfect and/or sterilize the incubated microorganism to a disposable extent, the cultured pathogenic microorganism does not diffuse to outside or to environment during the incubating period and/or incubated pathogenic microorganism does not come out to outside or environment by diffusion until the completion of its disinfection and/or sterilization or it does not pollute the outside or environment and the term further means that such a function can be achieved.

In the microorganism-detecting apparatus of the present invention as mentioned above, the medium which is to give an incubating condition suitable for the incubation of the microorganism and the microorganism-collecting part are located in a noncontact manner each other upon the non-using stage while, during the incubation for the detection of the microorganism, those specific medium and microorganism-collecting part are contacted each other whereby the status suitable for proliferation of the microorganism is achieved and, after use, the apparatus can be safely disinfected and/or sterilized.

In the present invention, said medium is further made in an appropriate state where the specific species of the microorganism (food poisoning microorganisms such as Staphylococcus aureus) are proliferated but other microorganisms (i.e. those other than Staphylococcus aureus such as Salmonella, Escherichia coli, Vibrio parahaemolyticus and other intestinal microorganisms) are substantially unable to grow. After the detection, a treatment for disposal of the apparatus can be conducted by a simple operation and a safe disposal is made possible at all times.

Accordingly, when appropriate incubating means (such as a simple incubator) and detecting means (such as a pH indicator which detects the changes in pH due to growth of the microorganism) of the microorganism are utilized, it is now possible to easily detect the specific species of microorganisms (such as food poisoning ones) and anyone is able to easily dispose the apparatus after use. When an apparatus which is in such a status that it gives an incubating condition having a selectivity to specific species of microorganisms (for example, food poisoning ones such as Staphylococcus aureus) is used, it is now easy to selectively detect and identify (i.e. to discriminate the type of the food poisoning microorganism) said specific species of microorganisms (such as food poisoning ones) and to disinfect and sterilize the apparatus containing the pathogenic microorganisms without anxiety.

Examples of the pathogenic microorganism are Staphylococcus aureus, Vibrio parahaemolyticus, Salmonella (such as Salmonella typhi, Salmonella paratyphi A, Salmonella schottmuelleri, Salmonella enteritidis, Salmonella thompson, Salmonella narashino, Salmonella potsdam, Salmonella oranienburg and Salmonella senftenberg), Clostridium botulinum, Shigella (such as Shigella dysenteriae and Shigella flexneri), Vibrio cholerae, Vibrio cholerae biotype eltor and Escherichia coli (such as enteropathogenic Escherichia coli represented by

E. coli O-157).

When the apparatus is used for detection of food poisoning, the apparatus of the present invention can be preferably made in such a manner that it shows a selective incubating ability to at least one microorganism selected from the group consisting of Staphylococcus aureus, Vibrio parahaemolyticus and Salmonella which occupy nearly all (about 99%) of the microorganisms causing food poisoning while the discrimination among those types of microorganism may not be essential. This is because, when the presence of at least one of the three types of microorganisms is confirmed, then it is possible to substantially remove all of the three types of microorganisms from the environment wherefrom they are detected if a certain disinfecting means as mentioned later is applied to the environment. When the food poisoning microorganism can be detected and identified in a manner as mentioned above (such as spontaneously), it is now possible to prevent food poisoning easily and effectively by adopting a means suitable for removing said food poisoning microorganism (such as by a disinfecting method where cooking devices, etc. are cleaned with "Hibiden" (trade name: SUMITOMO PHARMACEUTICALS CO. LTD., Japan, for a 0.2 to 0.5% solution of chlorohexidine) or with an invert soap followed by wiping and washing with water).

On the other hand, if it is necessary to identify by discriminating each of Staphylococcus aureus, Vibrio parahaemolyticus, Salmonella and pathogenic Escherichia coli O-157 as a microorganism causing the food poisoning for the sake of the countermeasure, it is also possible that a selective incubating ability is given to the microorganism-detecting apparatus used or a selective identifying ability is given to the detecting function.

If necessary, the apparatus for detecting microorganisms in accordance with the present invention may be constituted in such a manner that a selectivity to incubation of the "big three" food poisoning microorganisms (i.e. Staphylococcus aureus, Vibrio parahaemolyticus and

Salmonella; about 99% of the bacterial food poisoning is caused by any of them) is given. It is also possible to give a selectivity to incubation of enterohaemorrhagic Escherichia coli (such as E. coli O-157:H7) which has been an increasingly big problem in recent years. It is further possible to give a selectivity to incubation of antibiotic-resistant microorganisms such as MRSA.

The present invention will now be further illustrated by, if necessary, referring to the attached drawings.

FIG. 1 and FIGS. 3 to 16 show outer appearances, cross sections along the side of the apparatus, etc. of one of the preferred embodiments of the present invention.

First, an illustration will be made by referring to FIG. 1. The detecting apparatus in this embodiment is constituted from a hollow and cylindrical container (1) having an opening at the upper end and a cover (2) which can be freely inserted into and detached from said opening. At the upper part of said cover (2) (i.e. an opposite side to the container opening of the cover (2)), the first bag-shaped member (4) is placed which encloses a medium (3) suitable for the incubation of a specific microorganism such as Staphylococcus aureus. At the upper part thereof, the second bag-shaped member (8) is placed which encloses a disinfectant (9) having a sufficient concentration or amount for disinfecting and/or sterilizing the incubated microorganism. Said medium (3) further contains a pH indicator (such as Phenol Red, Bromcresol Purple and Bromthymol Blue) which identifies the pH changes due to proliferation of the microorganism. On the other hand, at the lower side (an opening side of the container) of said first bag-shaped member (4), a partition member (5) having one or more (preferably, more than one) hole(s) is disposed (e.g. embedded) which prevents falling of the first bag-shaped member (4) into an opening of the container. Further, at the lower side (at the side of the first bag-shaped member) of said second bag-shaped member (4), a partition member (15) having

one or more (preferably, more than one) hole(s) is disposed (e.g. embedded) which prevents falling of the second bag-shaped member (8) downward. In order to restrict such a downward movement of the first bag-shaped member (4) and the second one (8), there will be no need of using the partition members (5 and 15) but the structure having the same function, including, for example, an element constituting the cover (2) and having one or more through holes (i.e., a perforated portion in the partition part thereof), will do.

Further, at the nearly central part of the bottom side of the cover (2), a microorganism-collecting member (part) (6) extending to almost vertical direction to the opening side of the above container is placed. Said microorganism-collecting part (6) consists of a rod-like material (stem) (6a) located at the side near the cover (2) and a microorganism-collecting end (6b) located at the end (a far side from the cover (2)) of said rod-like material. Usually, said microorganism-collecting end (6b) is received in such a manner that it does not contact with the medium before use. Said microorganism-collecting end (6b) is to achieve a selective incubation and, usually, said end is received in such a manner that it does not contact with an antibiotic substance having a function of inhibiting the specific microorganism. However, as will be mentioned below in detail, it may be, if necessary, in such a state that some contact with said antibiotic substance is available or that said antibiotic substance is given at said microorganism-collecting end.

Examples of said antibiotic substance are those having a characteristic nature of effectively inhibiting the proliferation of the microorganisms other than specific ones to be detected (e.g., food poisoning microorganisms such as enteropathogenic Escherichia coli and Salmonella and resistant microorganisms such as MRSA). When microorganisms which cause food poisoning (such as Staphylococcus aureus, Vibrio parahaemolyticus and Salmonella) are used as the microorganisms

to be detected, examples of the antibiotic substance are aztreonam, polymyxin B, fluconazole and a combination thereof. When antibiotic-resistant microorganism is used as the microorganism to be detected, the examples are oxacillin which inhibits Gram-positive bacteria having no resistance, polymyxin B and aztreonam which inhibits Gram-negative bacteria, polymyxin B as well as a combination thereof.

The antibiotic substance may, as will be mentioned later, be previously added to the medium, coated on the part of the container (1) used for incubation (such as a bottom or the container (1) or a wall near there), present as a powder which is made to be easily dissolved, or coated at the place which is a part of the microorganism-collecting part (such as the place which is just above the microorganism-collecting end (6b)). It is also possible that said antibiotic substance is placed separately from the part used for incubation in the above-mentioned container, the medium (3) or the microorganism-collecting part (6). In an embodiment where the antibiotic substance is placed separately as such, a disk-shaped member (7) (refer to FIG. 5; preferably composed of "porous material") to which said antibiotic substance is given may, if necessary, be placed at the inner area of the container (1) (such as a space between the microorganism-collecting end (6b) and the bottom of the container). Alternatively, the antibiotic substance may be placed in such a manner that it is supplied when the medium (3) enclosed in the first bag-shaped member (4) (which will be mentioned below) falls down into the container. In such an embodiment, it is also possible that the antibiotic substance is placed at the partition member (5) or at the upper side of the guiding material (20) (cf. FIG. 4).

When a microorganism-detecting apparatus in such an embodiment as shown in FIG. 1 is used, a cover (2) having a microorganism-collecting part (6) is at first taken out from the container as shown in FIG. 2(a). Then, as shown in FIG. 2(b), the microorganism-collecting end (6b) at the end of the

microorganism-collecting part (6) is rubbed on an object to be tested (10) (such as a chopping board) and the microorganism existing in said object to be tested (10) is collected to said microorganism-collecting end (6b). Then a cover (2) having the microorganism-collecting part (6) is inserted into the container again and, after that, as shown in FIG. 3, the first bag-shaped member (4) is broken (by, for example, strongly compressing it from outside of the cover (2) using a compressing means which is not shown here) so that the medium (3) which is enclosed and received in said first bag-shaped member (4) is fallen down into the container through the holes of the partition member (5). As a result, the microorganism-collecting end (6b) of the microorganism-collecting part (6) is dipped into said medium (3). At that time, falling of the materials other than the medium such as the broken pieces of the first bag-shaped member (4) is inhibited by the partition member (5) and does not fall down into the container.

For example, as mentioned hereinabove, when an antibiotic substance having a specific selectivity is attached to the microorganism-collecting end (6b), proliferation of the microorganisms other than the specific microorganism (such as food poisoning microorganisms including Staphylococcus aureus and Clostridium botulinum) is substantially inhibited in case the microorganism-collecting end (6b) of the microorganism-collecting part (6) is dipped in the medium (3) as such. Accordingly, when the microorganism-detecting apparatus in such a state is subjected to an incubation by an appropriate incubating means (such as a simple incubator), the specific microorganism (such as food poisoning microorganism including Staphylococcus aureus and Clostridium botulinum) is selectively proliferated. There is no particular limitation for the incubating condition at that time but, usually, the condition of 37 °C for about 16 to 24 hours is sufficient. After the above-mentioned incubating operation, a change, if any, of the pH indicator contained in the medium (3) (and also the degree of said changes in color) is checked whereby the specific food poisoning microorganism (such as Staphylococcus aureus) can be

easily detected and identified (i.e. discrimination of the type of the food poisoning microorganism is conducted). For example, the medium containing Phenol Red as a pH indicator shows a pink color (pH: 7.4) in the initial stage of incubation and, when Staphylococcus aureus is present, it changes to yellow whereby a detection can be done. In addition, physical and chemical changes in the nature and appearance resulted by the substances which are produced by the proliferated microorganism or obtained due to a decomposition thereby, turbidity of the medium and growth of colony are observed as a change in the medium whereby the presence of the microorganism may be judged as well. From a viewpoint of observation by naked eye as such, it is preferred that the container (1) has a light-transmitting ability such as that at least the area wherefrom the observation is conducted is transparent. When there is a possibility that the medium, the antibiotic substance, etc. are affected by light to change their nature, then said transparent area may be in such a constitution that it is covered by a light-shielding coat and, upon observation, it is detached.

Finally, the apparatus where the microorganism is incubated and detected is disposed and, for such a purpose, it is necessary that the incubated cells, cultured products, inner side of the container, etc. are completely disinfected/sterilized. Although not shown in the figures, the second bag-shaped member (8) is broken (by applying a sufficient force for disintegration or by strongly compressing from outside of the cover (2) using, for example, means of disintegrating mechanism or compressing device which is not shown) whereby the disinfectant (9) enclosed and received in said second bag-shaped member (8) is fallen down into the container through the holes of the partitions (5 and 15). As a result, the microorganism-collecting end (6b) of the microorganism-collecting part (6) and the medium (3) containing the incubated microorganism are dipped in and/or mixed with said disinfectant (9). For a complete disinfection/sterilization at that time, it is preferred to shake or the

like so that the disinfectant (9) comes throughout the inside of the container (1) and, since a treatment is conducted in a substantially tightly-closed system in the present invention, it is possible to conduct a safe and sure disinfecting/sterilizing operation.

Constitution of each part of the apparatus for detection of microorganisms in accordance with the present invention will be illustrated as follows:

Container

It is preferred that the container is constituted from a transparent or translucent material. To be more specific, the container may be formed using an inorganic material such as glass or an organic material such as plastics (e.g., polyethylene, polypropylene, polystyrene, polyethylene terephthalate (PET), polycarbonate, acryl resin and polyolefin) and, when weight and possibility of breakage upon centrifugal operation, etc. are taken into consideration, it is preferred that the container is constituted from plastics.

There is no particular limitation for the shape of the container so far as it has an opening at the upper end and a cover (2) can be freely attached to and detached from said opening. To be more specific, in addition to the shape of a test tube as shown in the figures, any of shapes in flask, bottle, etc. may be used.

Cover

There is no particular limitation for the material which constitutes the cover (2) but the material may be the same one as that used for the container. In another embodiment, the cover (2) may be preferably constituted from a material which is softer than that used for the container for lowering the possibility of damage of the container and for increasing the contact adherence with said container. To be more specific, both container and cover may be constituted from polypropylene (PP) or, when the container is

constituted from hard plastics or hard resin such as polystyrene and PET, the cover (2) may be constituted from soft plastics such as polyolefin or soft resin (this term is intended to use for covering elastic materials or elastomers as well) or, in some cases, that is rather preferred. A cover is a material having a part placed for connecting to a mouth or a wall of the container. The cover may be in such a form that is fixed to the container by means of either screw or bayonet or is fixed at the certain position by deformation of the connecting part. It is also possible to place a packing or the like at the connecting part of the cover with the container. All or a part of the material which constitutes the cover may be colored for discrimination or may be printed with letters, signs, pictures, etc.

In preferred specific examples, the cap part at the top of the cover may be in different color for each microorganism to be tested so that the type, etc. of the microorganism to be tested can be easily understood and said part may be suitably colored or modified with letters, signs, pictures, etc. It is also possible to use a material which has its color by itself.

In the apparatus of the present invention, it is preferred that the cover (2) can receive at least two bag-shaped members as shown in FIG. 1, FIGS. 4 to 7 and FIGS. 10 to 16 where the first bag-shaped member receives a medium while the second one receives a disinfectant/bactericide.

Bag-Shaped Material

A. Medium

There is no particular limitation for the stuff, shape, etc. of the first bag-shaped member (4) so far as the first bag-shaped member (4) can surely and stably enclose the medium (3) upon storage and transportation of the microorganism-detecting apparatus and a predetermined amount of the medium (3) can be surely released upon incubation of the microorganism.

To be more specific, stuff for the first bag-shaped member (4) may be a hard stuff such as glass and hard plastics or a soft one such as soft plastics (e.g., polyethylene and polypropylene) and flexible stuff (e.g., paper) but, in view of easiness for confirming the presence of the enclosed medium and the color tone, etc. thereof, it is preferred to use a transparent to translucent material.

In the present invention, there is no particular limitation for the means for releasing the medium (3) from the first bag-shaped member (4) so far as the medium (3) is placed at a position appropriate for incubation upon the incubation of the microorganism. To be more specific, upon releasing the medium (3) from the first bag-shaped member (4), said member (4) may be subjected to any of the means including perforation, cutting and breakage. When perforation, cutting, etc. of the first bag-shaped member (4) is conducted, a material such as a needle-like material or an edge-like material whereby perforation or cutting is made easy (not shown in figures) may be installed at the inner wall of the cover (2) if necessary. On the other hand, in an embodiment where the medium (3) is released by breaking the first bag-shaped member (4), it is preferred in terms of easiness of said breakage that the first bag-shaped member (4) is composed of a hard stuff such as glass and hard plastics. In a structure where a substantially tight-sealed system can be maintained and a sufficient breaking force from outside can be applied to said bag-shaped member, it is possible to easily apply a strong tension to such a hard stuff and to break it whereby the content can be taken out. An example of the preferred structure is that a strong tension is concentrated on a specific area (that may be two or more areas but a considerably narrow area is preferred) of the bag-shaped member made of a hard stuff. As will be mentioned in detail by referring to FIGS. 6 to 16 as hereunder, it is to be understood that such a thing can be achieved by various structures and it is also possible to adopt a structure where known structures and conventional structures are requested to apply to the microorganism-detecting apparatus and to install

that in the microorganism-detecting apparatus of the present invention.

B. Disinfectant/Bactericide

In the present invention, there is no particular limitation for stuff, shape, etc. of the second bag-shaped member (8) so far as the disinfectant/bactericide (9) can be safely and surely enclosed and received by the second bag-shaped member (8) during the storage/transportation of the microorganism-detecting apparatus until use and during incubation of the microorganism and so far as a predetermined amount of the disinfectant/bactericide (9) can be surely released upon disposal of the apparatus after use.

To be more specific, the stuff for said bag-shaped member can be selected from those which are used for the already-mentioned first bag-shaped member and it is preferably a transparent to translucent material with the purposes that the receiving disinfectant/bactericide (9) can be stably and surely enclosed and that the presence of the predetermined amount of the disinfectant/bactericide can be surely confirmed when the incubated microorganism is sterilized/disinfected or that confirmation of color tone, etc. can be done in an easy manner from a viewpoint of confirmation that the sterilizing/disinfecting treatment was surely done.

In the present invention, there is no particular limitation for the means of releasing the disinfectant/bactericide (9) from the second bag-shaped member so far as the disinfectant/bactericide is positioned to the place suitable for said disinfecting/sterilizing treatment upon the disposing stage of the microorganism-detecting apparatus. To be more specific, it is possible to take any of the means of perforation, cutting, breaking, etc. for the second bag-shaped member (8) in releasing the disinfectant/bactericide (9) from the second bag-shaped member (8). When perforation, cutting, etc. of the second bag-shaped member (8) is conducted, a material such as a needle-like material or an edge-like material whereby perforation or cutting is made easy (not

shown in figures) may be installed at the inner wall of the cover (2) if necessary. On the other hand, in an embodiment where the disinfectant/bactericide (9) is released by breaking the second bag-shaped member (8), it is preferred in terms of easiness of said breakage that the second bag-shaped member (8) is composed of a hard stuff such as glass and hard plastics.

In a structure where a substantially tight-sealed system can be maintained and a sufficient breaking force from outside can be applied to said bag-shaped member, it is possible to easily apply a strong tension to such a hard stuff and to break it whereby the content can be taken out. An example of the preferred structure is that a strong tension is concentrated on a specific area (that may be two or more areas but a considerably narrow area is preferred) of the bag-shaped member made of a hard stuff. As mentioned in detail by referring to FIGS. 6 to 16 as hereunder, it is to be understood that such a thing can be achieved by various structures and it is also possible to adopt a structure where known structure and conventional structure are requested to apply to the microorganism-detecting apparatus and to install that in the microorganism-detecting apparatus of the present invention. The force from outside may be that utilizing rotational movement, pushing-in movement, twist, etc.

Rod-Like Material

The rod-like material (stem) (6a) constituting the microorganism-collecting part in the present invention is a material having a so-called auxiliary function whereby a microorganism-collecting end (6b) having a function of direct collection of the microorganisms to be tested can be stably supported avoiding a contamination and, in addition, said microorganism-collecting end (6b) is kept at a position suitable for contacting it with the medium (3) upon incubation of the microorganism. There is no particular limitation for stuff, length, shape, etc. for the rod-like material (6a) so far as such functions of a stable holding and of a security for the contacting position are substantially achieved. In terms

of prevention of contamination and softness upon collection of the microorganism, it is preferred that said rod-like material (6a) is composed of a flexible plastics.

Microorganism-Collecting End

In the present invention, the microorganism-collecting end (6b) constituting the microorganism-collecting part is a material having such functions that it directly collects the microorganism, capable of receiving the collected microorganism in a receiving container without contamination with others after collection of the microorganism and substantially well contacts with the medium (3) during incubation of the microorganism so that a condition suitable for incubation of said collected microorganism is provided. So far as such collecting and contacting functions are substantially achieved, there is no limitation for its structure but any structure will do and there is no particular limitation for stuff, length, shape, etc. of the microorganism-collecting end (6b). To be more specific, said microorganism-collecting end (6b) may be, for example, just an end of the rod-shaped element (6a). However, for an object of easily achieving the above-mentioned collecting and contacting functions, it is preferred that said microorganism-collecting end (6b) has a plane having an increased surface area. Preferred examples of the "plane having an increased surface area" are a surface having one or more concave(s) (cutting, uneven surface, etc.) (such as an end like ear pick or spatula) and a porous surface. In an embodiment where the microorganism-collecting end (6b) (at least a surface area thereof) is composed of a porous material, a porous material in a form of xerogel or a fibrous material is preferably used. With regard to said fibrous material, filter paper, cotton (such as absorbent cotton), punch felt, cloth, knitted goods, nonwoven fabric, etc. may be used without particular limitation. It is also possible to use a structure where rubber or plastic material is used partially, a hollow structure or a plunger structure using a elastic material or

a flexible material or a suckable structure together with a rod-shaped element (6a) which constitute a microorganism-collecting part whereby the sample can be easily collected when it is liquid. Particularly preferred one is that in a shape of an applicator having cotton at its end.

Examples of the object (an object to be tested) wherefrom the microorganism is collected are usually cuisine environment such as utensils of cuisine, cooking devices, etc., home kitchen, toilet, bathtub, the place where food and beverage are sold, etc. Such an object is, for example, wiped with and dipped into the end of the applicator (microorganism-collecting end (6b)) as mentioned above. It goes without saying that, in that case, collection of the sample is usually conducted paying a care that said applicator does not touch with unnecessary part or area. Other examples of the object wherefrom the microorganism is collected are food and food materials.

Medium

There is no particular limitation for the type, composition, etc. of the above-mentioned medium (3) so far as incubation of the expected microorganism to be detected (such as food poisoning microorganism or resistant microorganism) is possible and known medium for such a microorganism or an improved medium thereof as well as a medium which is modified for better usability may be used. Preferably in the case of food poisoning microorganism, it is possible to suitably select the medium by taking the compatibility (such as reactivity, intersolubility, etc.) with the later-mentioned antibiotic substances, pH indicator, etc. into consideration.

With regard to a medium for Staphylococcus aureus, it is possible to use mannitol-salt (modified) medium, Baird-Parker medium, tellurite-glycine medium, phenylethanol-azide medium, chocolate-agar medium, blood-agar medium, heart infusion agar medium, etc. in the present invention and, in view of the adaptability with the later-mentioned antibiotic substance for selecting Staphylococcus aureus, the use of a

mannitol-salt (modified) medium is preferred.

As a medium for microorganism resisting to antibiotics such as MRSA, that which is prepared by adding oxacillin, aztreonam, polymyxin B, or the like to the afore-described medium may be preferably used.

As a medium for Vibrio parahaemolyticus, it is possible to use salt-polymyxin (modified) medium, cellobiose-polymyxin-colistin medium, thiosulfate-citrate-bile salts-sucrose medium, TCBS medium, MacConkey agar medium, blood-agar medium, etc. and, in view of the adaptability with the later-mentioned antibiotics for selecting Vibrio parahaemolyticus, the use of a salt-polymyxin (modified) medium is preferred.

As a medium for Salmonella, it is possible to use xylose-lysine (modified) medium, mannitol-lysine-Crystal Violet Brilliant medium, Salmonella shigella medium, deoxycholate-citrate-lactose-sucrose medium, DHL agar medium, MacConkey agar medium, etc. and, in view of the adaptability with the later-mentioned antibiotics for selecting Salmonella, the use of a xylose-lysine (modified) medium is preferred.

As a medium for Escherichia coli, it is possible to use BTB-lactose-agar medium, blood-agar medium, deoxycholate medium, LB medium, etc.

With regard to such a medium, it is possible to select from those mentioned in known literatures or from those prepared by modifying/varying the above-mentioned ones. Examples of the known literatures are Examined Japanese Patent Publication Hei-07/73,509 (JP Hei 07/73,509 B), Unexamined Japanese Patent Publication (Laid-Open) Hei-01/296,998 (JP Hei 01/296,998 A), etc. for a medium for Vibrio parahaemolyticus; Laid-Open Japanese Patent Publications Sho-52/134,082 (JP Sho 52/134,082 A), Hei-06/217,760 (JP Hei 06/217,760 A), etc. for a medium for Staphylococcus aureus; Laid-Open Japanese Patent Publication Hei-02/65,798 (JP Hei 02/65,798 A), Hei-05/130,859 (JP Hei 05/130,859 A), Hei-06/22,791 (JP Hei 06/22,791 A), etc. for a medium for Salmonella; etc. as well as the references cited therein. In the present invention, a medium which is optionally modified/changed for adapting especially as a liquid

medium is preferred.

Usually, a medium in a liquid state is preferably used and that filled or received in a tightly-sealable containers such as ampules or capsules is suitably used although it is not limited thereto but, for example, it may be in such a form that it can be supplied to an incubating space of the container separated by a partition or the like which can be easily broken by a force from outside.

The medium may be an agar medium and, for example, it may be in a form that it does not contact with an antibiotic substance being separated by a partition or the like which can be easily broken by a force from outside. It may be in such a form that, upon incubation, the partition is broken by pushing with an end of the microorganism-collecting rod constituted by a hard material; it is broken by hitting an iron piece or the like coated with glass, plastics or the like placed on said partition by means of a magnet placed outside; or, in addition to the above, a capsule of an antibiotic substance solution or a buffer solution is broken to flow the solution on a medium whereby the microorganism at the collecting end, the antibiotic substance and the agar medium are contacted. It may also be in such a form that dry medium or powder medium is received therein instead of the agar medium and is reconstituted to the conventional agar medium using an aqueous liquid such as a buffer solution which is received in various forms in the container of the microorganism-detecting apparatus.

In the case of the food poisoning microorganism, it is possible to detect and identify said microorganism by incubating as colonies (by means for a medium in a form of gel, for example). However, in a viewpoint of easiness of detection and identification of the food poisoning microorganism in usual restaurants and home, it is preferred to use a liquid medium giving a homogeneous incubating system to which pH indicator or certain chemical substance capable of acting as an indicator after converted to decomposed product or metabolite as a result of decomposition or metabolism by the microorganism for

proliferation of the microorganism is added whereby the judgment can be easily conducted by means of changes in color due to pH change or of naked eye. The medium (3) may preferably be somewhat viscous so far as the detection/identification of the food poisoning microorganism by means of color change is not substantially disturbed.

Additives

If necessary, various additives may be added to the above-mentioned medium (3). In an embodiment of the present invention where detection of the microorganism to be detected is confirmed by means of pH change due to proliferation of said microorganism, it is preferred that a pH indicator is previously added to said medium. When such a pH indicator is used, pH of the medium changes as a result of production of acidic substances (such as lactic acid) by proliferation of the microorganism whereby the color tone of the indicator changes and, accordingly, confirmation of said proliferation becomes easy.

There is no particular limitation for the pH indicator which is applicable to the present invention. In view of pH change region, color tone, etc., Phenol Red, Cresol Red, Bromthymol Blue, Bromcresol Purple, triphenyltetrazolium, Blue Tetrazolium, etc. can be appropriately used. Such pH indicators may be used either solely or jointly by combining two or more if necessary. It is also preferred to use each of the pH indicators having different color tones (before changed) in each of the media for detecting different types of microorganism because the microorganism to be detected can be easily recognized at a glance by means of such color tones.

Antibiotic Substances

In the present invention, it is also possible that the medium itself is bestowed with some selectivity to the microorganism but, usually, in order to make the selectivity sure, it is preferred that an antibiotic substance which

effectively inhibits the proliferation of the microorganism other than the specific one to be detected and identified is jointly used upon necessity. Said antibiotic substance is to achieve a selective incubation of the microorganism to be detected and has a function of inhibiting the proliferation of the microorganism which is other than the specific one to be detected. The type of the antibiotic substance used therefor may be selected depending upon the relation with the microorganism to be detected or may be selected by considering what kind of microorganism selectivity is to be bestowed depending upon the state upon actual use of the apparatus of the present invention.

The "selectivity" upon incubation of microorganism can be adjusted or selected depending upon the purpose. For example, when food poisoning microorganism is an object, it is preferred to have an incubation selectivity to one or more microorganisms selected from the group consisting of "Staphylococcus aureus, Vibrio parahaemolyticus and Salmonella" which occupy nearly all (around 99%) of the microorganisms causing food poisoning while discrimination among those three microorganisms is not essential. However, from a viewpoint of a minute countermeasure to each of the characteristics of those food poisoning microorganisms, it is in some cases preferred to have an "incubation selectivity" whereby discrimination among "Staphylococcus aureus, Vibrio parahaemolyticus and Salmonella" is possible. In addition, there is a case where it is preferred to have an "incubation selectivity" whereby enteropathogenic Escherichia coli such as E. coli O-157 can be discriminatively detected.

In the present invention, there is no particular limitation for the antibiotic substance to be used so far as it is capable of effectively inhibiting the microorganism other than specific (one or more) microorganism(s) to be detected such as food poisoning microorganism. Although the antibiotic substance may be used solely in some cases but, preferably, two or more may be used jointly depending upon the purpose.

The amount may be suitably decided especially depending upon the amount of the medium used. For example, in detecting a food poisoning microorganism, the following antibiotic substances are preferably used. In the following description, the concentration for each antibiotic substance is a suitable concentration at the incubating stage of the food poisoning microorganism (when unitedly used with the medium).

<Antibiotic Substances Selective to Staphylococcus aureus>

Aztreonam	1 to 15 μ g/ml
Polymyxin B	1 to 15 μ g/ml
Fluconazole	1 to 10 μ g/ml

Combination of the above three antibiotic substances can be used preferably.

<Antibiotic Substances Selective to Vibrio parahaemolyticus>

Polymyxin B	1 to 15 μ g/ml
Fluconazole	1 to 10 μ g/ml
Potassium tellurite	1 to 20 μ g/ml

Combination of the above three antibiotic substances can be used preferably.

<Antibiotic Substance Selective to Salmonella>

Fluconazole	1 to 10 μ g/ml
-------------	--------------------

Locating Position of the Antibiotic Substances

There is no particular limitation for the position or the place where the antibiotic substances are located or placed so far as they function unitedly with the medium (3) at the incubating stage of the microorganism. Preferably, it can be held at a disk member (7) as will be mentioned later in detail (cf. FIG. 5) while other methods are possible as well. Thus, to be more specific, the antibiotic substance may be previously added to a medium (3), coated on an inner wall of

the container or bestowed at a certain place of the microorganism-collecting part (6) (the place being able to contact with the medium (3) upon incubation). Two or more of such a positions may be applied if necessary. It goes without saying that, in those cases, the above-mentioned disk member (7) may be omitted. When the antibiotic substance is previously added to a medium (3), it is preferred, by taking inactivation of the antibiotic substance in said medium into consideration, to add the antibiotic substance in such a little bit much amount that said inactivation (usually, a decrease in the antibiotic activity to an extent of around 30 to 35% when stored at ambient temperature for one year) can be supplemented.

When an antibiotic substance is received in a space which is used for incubation in a container, the antibiotic substance may be received in a powdery form but may be received as capsules or tablets which are easily dissolved upon contacting with a liquid such as a medium or, after its solution is added to a position to be used as a space for incubation in the container as mentioned above, it may be received by coating on an inner wall of the container by means of a vacuum drying or the like. Alternatively, the antibiotic substance in a form of an easily soluble powdery or a solution may be filled in a breakable ampule or capsule and received in a space used for incubation in the container in such a manner that it can be easily added. It may be received in any place of the container and may be received in such a manner that it can contact with the medium by shaking the container, by washing out with a liquid medium or by breaking the ampule by a force from outside before incubation. A preferred receiving method is that, before incubation, it keeps a noncontact state with the medium and, for example, the antibiotic substance may be placed at the partition member (5) or above the guide member (20).

On the other hand, in an embodiment where the antibiotic substance is located at a certain position of the microorganism-collecting part (6), it is preferred that the

antibiotic substance is located at the rod-shaped member (6a) (the position where contact with the medium (3) is possible) of said microorganism-collecting part (6) and/or at the microorganism-collecting end (6b) which is an end of the microorganism-collecting part (6). When the antibiotic substance is placed at the microorganism-collecting end (6b), it may be impregnated into said microorganism-collecting end (6b) itself or, after preparing a multi-layered structure consisting of an inner layer (at the side of the rod-shaped element (6a)) which is a microorganism-collecting end (6b) and an outer layer (for collecting the microorganism), the antibiotic substance is placed to said inner layer part. Alternatively, the antibiotic substance may be impregnated in or coated on the upper half area of the microorganism-collecting end (6b).

Disk Member

A disk member (7) which is optionally used in the present invention is a material having the functions for holding the antibiotic substance and for offering the condition suitable for incubation of the specific kind of microorganism upon contacting with the medium (3) during the incubation (cf. FIG. 5). There is no particular limitation for the stuff, length, shape, etc. of the disk member so far as such holding and contacting functions are substantially achieved. To be more specific, said disk member may be a simple board or a flat material but, in view of an easy and effective achievement of the above-mentioned holding and contacting functions, it is preferred that said disk member has a plane with an increased surface area. Examples of such "an increased surface area" are a plane with one or more concave(s) (cutting, uneven surface, etc.) and porous surface.

In an embodiment where the disk member (at least its surface area) is composed of a porous material, the preferably used one is a xerogel-like porous material or a fibrous material. Examples of said fibrous material which is applicable without limitation are filter paper, cotton (such as

absorbent cotton), punch felt, cloth, knitted goods, nonwoven fabric, etc.

Examples of a medium which does not need a disk member (7) for holding the antibiotic substance, improves the operation ability of the microorganism-detecting apparatus and is suitable as a liquid medium as well are as follows:

(a) Composition of a Medium for Salmonella (per 1,000 ml of the medium):

An appropriate amount of tryptone, preferably 3 to 7 g, for instance, 5 g; an appropriate amount of yeast extract, preferably 1 to 6 g, for instance, 3 g; an appropriate amount of lysine, preferably 5 to 15 g, for instance, 10 g; an appropriate amount of glucose, preferably 0.5 to 2 g, for instance, 1 g; an appropriate amount of sodium chloride, preferably 7 to 9 g, for instance, 8 g; an appropriate amount of monopotassium dihydrogen phosphate, preferably 1.0 to 2.0 g, for instance, 1.6 g; an appropriate amount of sodium thiosulfate, preferably 0.1 to 0.3 g, for instance, 0.2 g; an appropriate amount of ammonium iron citrate, preferably 0.2 to 0.4 g, for instance, 0.3 g; an appropriate amount of magnesium chloride, preferably 15 to 25 g, for instance, 20.3 g; an appropriate amount of 0.4% Malachite Green solution, preferably 27 to 33 ml, for instance, 30 ml; and an appropriate amount of Bromcresol Purple, preferably 0.01 to 0.03 g, for instance, 0.02 g

per 1,000 ml of the medium (pH of the medium being about 5.3 to 5.7);

(b) Composition of a Medium for Vibrio such as Vibrio parahaemolyticus (per 1,000 ml of the medium):

An appropriate amount of a salt polymyxin broth, for instance, 25 to 40 g (where a salt polymyxin broth contains an appropriate amount of yeast extract, an appropriate amount of peptone, an appropriate amount of sodium chloride and an appropriate amount polymyxin B); an appropriate amount of mannitol, preferably 15 to 25 g, for instance, 20 g; an appropriate amount of sodium citrate, preferably 5 to 10 g, for instance, 8 g; an appropriate amount of sodium thiosulfate,

preferably 0.1 to 0.3 g, for instance, 0.2 g; and an appropriate amount of Bromocresol Purple, preferably 0.01 to 0.03 g, for instance, 0.02 g

per 1,000 ml of the medium (pH of the medium being about 7.0 to 7.4);

(c) Composition of a Medium for Escherichia coli (per 1,000 ml of the medium):

An appropriate amount of lauryl sulfate broth, preferably 26 to 43 g, for instance, 35.6 g (the lauryl sulfate broth contains an appropriate amount of tryptose, an appropriate amount of lactose, an appropriate amount of monopotassium dihydrogen phosphate, an appropriate amount of dipotassium monohydrogen phosphate, an appropriate amount of sodium chloride and an appropriate amount of sodium lauryl sulfate); an appropriate amount of lactose, preferably 3 to 8 g, for instance, 5 g; and an appropriate amount of Bromthymol Blue or Bromocresol Purple, preferably 0.03 to 0.05 g, for instance, 0.04 g

per 1,000 ml of the medium (pH of the medium being about 6.75 to 7.25); and

(d) Composition of a Medium for Staphylococcus such as Staphylococcus aureus (per 1,000 ml of the medium):

An appropriate amount of tryptone, preferably 5 to 15 g, for instance, 10 g; an appropriate amount of yeast extract, preferably 2 to 8 g, for instance, 5 g; an appropriate amount of mannitol, preferably 5 to 15 g, for instance, 10 g; an appropriate amount of dipotassium monohydrogen phosphate, preferably 2 to 8 g, for instance, 5 g; an appropriate amount of lithium chloride, preferably 5 to 6 g, for instance, 5.5 g; an appropriate amount of glycine, preferably 12 to 20 g, for instance, 16.5 g; an appropriate amount of sodium pyruvate, preferably 10 to 14 g, for instance, 12 g; an appropriate amount of 1% aqueous potassium tellurite solution, preferably 12 to 18 ml, for instance, 15 ml; and an appropriate amount of Phenol Red, preferably 0.02 to 0.03 g, for instance, 0.025 g

per 1,000 ml of the medium (pH of the medium being about 7.25 to 7.75).

Among the components for the medium, amounts of those which are added as nutrients such as tryptone, yeast extract, lysine, glucose, peptone, mannitol, tryptose and lactose may be either increased or decreased by persons skilled in the art depending upon the object and necessity and it is to be understood that such a medium is also included in the coverage of the medium of the present invention. Examples of the components related to the selectivity of the microorganism to be detected are sodium chloride, Malachite Green, Bromcresol Purple, sodium thiosulfate, ammonium iron citrate, polymyxin B, sodium lauryl sulfate, Bromthymol Blue, lithium chloride, sodium pyruvate, potassium tellurite and Phenol Red. Since such components have considerable affection on the sensitivity for the microorganism detection, it is requested that the adding amounts are precisely selected. However, it is also acceptable to select the amounts which are out of the above-mentioned ranges after conducting normal tests or the like by incubating the microorganism known in the art and selecting and deciding the due amounts. It is to be understood that the medium with such a modification or improvement is also within a coverage of the present invention.

Those media are liquid ones having a fluidity and are particularly suitable for utilization in the microorganism-detecting apparatus of the present invention. Those media show excellent microorganism-detecting sensitivity and specificity to the microorganism and, at the same time, they have an excellent detectability to the microorganism due to color change of the pH indicator. The amounts of the components constituting the above-mentioned media may be either increased or decreased by a person skilled in the art and it is also possible to add appropriate component(s) provided that the basic characteristics are unaltered. Commercially-available ones may be used as the components to be compounded with the medium. For example, salt-polymyxin broth is available from NISSUI SEIYAKU K.K., Japan, lauryl sulfate broth is available from DIFCO and other components are available from DIFCO, WAKO PURE CHEMICAL INDUSTRIES, LTD., etc.

The apparatus of the present invention for the detection of microorganisms is useful for detecting specific kinds of microorganism (food poisoning microorganisms such as Staphylococcus aureus, Salmonella, Escherichia coli, Vibrio parahaemolyticus and other intestinal microorganisms) in cooking environment (such as equipment and utensil at cuisine) and human living environment including kitchen, toilet, bath room and shops where food and beverage are sold. It is also possible to utilize the microorganism-detecting apparatus of the present invention with an object of detecting the afore-described microorganisms in food and food materials containing various components in high concentrations such as for detecting the contamination by food poisoning microorganism. Food and food materials contain various components such as saccharides, proteins, lipids, organic acids (e.g., acetic acid and citric acid), amino acids, chemical condiments, vitamins, minerals and other chemical substances. As a result thereof, pH, ion strength, etc. of the medium change and, when detection is conducted where the principle of the detection utilizes the color change of the pH indicator for the pH change of the medium due to proliferation of microorganism, there is a possibility that the above changes in pH and ion strength affect on the pH indicator used there. In that case, it is possible to prepare an appropriate sample depending upon the type of the food and food materials to be tested by, for example, subjecting the sample to a pretreatment (such as adjustment of pH), selecting an appropriate pH indicator, changing the components of the medium or changing the amounts of the components. For example, when the food to be tested is beverage such as a milk product and an object is to detect Escherichia coli, Bromthymol Blue used as a pH indicator may be substituted with Bromcresol Purple.

Aseptic Condition

The microorganism-detecting apparatus of the present invention as mentioned above is preferably in an aseptic condition (at least in its inner area) immediately before the

use in view of correctness of the test. In making the apparatus of the present invention aseptic after its manufacture, known physical means (e.g., sterilization by irradiation of electromagnetic waves such as ultraviolet ray and gamma-ray) and/or chemical means (e.g., sterilization by gas such as ethylene oxide) may be used without particular limitation. For example, the apparatus can be sterilized by irradiating with gamma-ray at 1 to 30 °C for one minute. When sterilization is conducted by a sterilizer using ethylene oxide, sterilization can be achieved by conducting at, for example, 0 to 70 °C (preferably, at 30 to 50 °C) in a gas consisting of about 10 to 40% of ethylene oxide and about 60 to 90% of carbon dioxide gas (preferably, about 20% of ethylene oxide and about 80% of carbon dioxide gas) under certain pressure (preferably, at the pressure of about 0.1 to 1 kgw/m² or, more preferably, at about 0.3 kgw/m²) for about 1 to 48 hours (preferably, about 3 to 10 hours).

After the above-mentioned sterilization, it is preferred that the microorganism-detecting apparatus of the present invention is stored in a bag which is made of film or the like (not shown). At that time, the microorganism-detecting apparatus (FIG. 1) may be unitedly stored in the same bag or, if necessary, each of the container and the cover (2) (and the microorganism-collecting part (6)) may be stored in different enclosures.

With regard to selection and combination of the afore-described microorganism-collecting end, various receiving forms concerning the antibiotic substances and various forms concerning the medium, a lot of variations and combinations are allowable provided that they are not out of the objects and characteristic features of the present invention. Especially in the case where both (or at least one of) antibiotic substance and medium (particularly preferably, liquid medium) are/is received in a bag, ampule or capsule made of synthetic resin or glass and, upon actual use, said receiver is broken whereby the antibiotic substance and the medium are unitedly combined, it is preferred that the area of the container

receiving said bag, ampule or capsule is made of a material or in a shape whereby such bag, ampule or capsule can be easily broken or destroyed by a breaking device or by a force from outside without such a device. For example, the area is flexible or is a substance having elasticity or flexibility.

Disinfectant/Bactericide

The disinfectant or bactericide which is used for disinfecting and/or sterilizing the incubated pathogenic microorganism in the microorganism-detecting apparatus after use whereby said used microorganism-detecting apparatus can be safely disposed is added in such a state that substantially separated from outside or from environment since the incubation of the microorganism to be tested is started so that the area containing the incubated microorganism can be disinfected and/or sterilized. If it is in such a structure, it may be located in the microorganism-detecting apparatus of the present invention in any form but a representative example is that disinfectant/bactericide is present in a form that it is received in the second bag-shaped member (8) which is different from the first bag-shaped member for receiving the medium (3) in a cover (2). With regard to the disinfectant/bactericide, one which is suitably selected from disinfectants and/or bactericides which have been known in the art may be used and the examples are disinfectants/bactericides of a chlorate type, those of an invert soap type, those of a biguanide type, those of an aldehyde type and those of a phenol or cresol type. Representative examples of the disinfectant/ bactericide are sodium hypochlorite, bleaching powder, chloramine-T, benzalkonium chloride, benzethonium chloride, chlorhexidine salt, polyalkylene biguanidine salt, formaline, glutaraldehyde and pompidon iodine.

The disinfectant (bactericide) used may be selected from those which have been commonly used for disinfecting, sterilizing or washing the area wherefrom pathogenic microorganism such as food poisoning microorganism was detected such as chopping board and cooking board or which have been

found to be preferred for such an object. Examples of such a detergent (disinfectant) are the above-mentioned sodium hypochlorite (WAKO PURE CHEMICAL INDUSTRIES, LTD., Japan), "Tego-51" (10%; trade name of NIPPON SHOJI K.K., Japan), "Kitchen Kabi-Killer" (trade name of JOHNSON K.K., Japan) and "Kitchen Haiter" (trade name of KAO K.K., Japan).

Such a detergent (disinfectant) may also be that where its disinfecting effect has been well noted by the following test method using, for example, Staphylococcus aureus ATCC 25923, Escherichia coli ATCC 25922, Enterobacter faecalis ATCC 29212 and Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853.

Method for Testing the Disinfecting (Sterilizing) Effect

(1) Preparation of Microorganism Solution

Standard strains of Staphylococcus aureus ATCC 25923, Escherichia coli ATCC 25922, Enterobacter faecalis ATCC 29212 and Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 incubated for 24 hours were used and prepared into a solution having a McFarland's standard turbidity of No.1 (3.0×10^8 CFU/ml) using a sterile physiological saline solution.

(2) Sterilizing Method

Each of the washings was used as an original solution and contacted, in a final concentration of 10%, with for five minutes with the microorganism solution prepared in the above (1).

(3) Incubating (Culturing) Method

The microorganism solution contacted with the washing for five minutes as mentioned in the above (2) was used as an original solution, diluted to 10-fold (x10) and 100-fold (x100) with a sterile physiological saline solution and each 0.1 ml of them was inoculated to a blood-agar medium followed by incubating. As a control, a system containing no detergent was prepared and incubated by the same manner as above. Numbers of the colonies grown after incubating at 37 °C for 48 hours were compared with those of the control whereby the disinfecting

effect was evaluated.

When sodium hypochlorite (WAKO PURE CHEMICAL INDUSTRIES, LTD., Japan), "Tego-51" (10%; trade name of NIPPON SHOJI K.K., Japan), "Kitchin Kabi-Killer" (trade name of JOHNSON K.K., Japan) and "Kitchen Haiter" (trade name of KAO K.K., Japan) were used as detergents, all of the standard strains were found to be sterilized within five minutes by those detergents.

FIG. 4 shows another embodiment of the microorganism-detecting apparatus of the present invention. In this embodiment of FIG. 4, a "guide member" (20) has a function of promoting the falling-down of a medium (3) along the rod-shaped element (6a) when the medium (3) falls down into a container (1) and said guide member is disposed at the lower area of the partition member (5). Constitution of FIG. 4 is the same as that of FIG. 1 except that said guide member (20) is installed therein.

There is no particular limitation for the stuff, shape, size, etc. of the guide member (20) so far as said guide member (20) plays a function of promoting the falling-down of the medium (3) along the rod-shaped element (6a). In view of the easiness in promoting the falling-down of the medium (3) along the rod-shaped element (6a), it is preferred that the guide member (20), at least a part thereof, has a smaller inner diameter than that of the container (1).

To be more specific, it is preferred that, as shown in FIG. 4, said guide member (20) is composed of a "fan"-shaped member where the lower end of the guide member is somewhat inclined to the central direction of the container (1) (i.e., in other words, said lower end has a smaller diameter than the inner diameter of the container (1)) although such an "inclination" may be omitted. FIG. 5 shows a microorganism-detecting apparatus of the present invention where the disk member (7) is placed in the container (1).

FIGS. 6 to 11 are to show a basic constitution of the microorganism-detecting apparatus of the present invention in another representative embodiment, particularly to show a constitution basically bestowed as a means for disinfecting and/or sterilizing the cultured medium, etc. after incubation. FIG. 6 mainly shows a cross sectional view of said microorganism-detecting apparatus; FIG. 7 mainly shows an outer appearance of said microorganism-detecting apparatus; FIG. 8 shows an outer appearance of the container (21) for said microorganism-detecting apparatus; FIG. 9a shows a view from the upper side of the container (21) for said microorganism-detecting apparatus; FIG. 9b shows a cross sectional view of the side of the container (21) for said microorganism-detecting apparatus; FIG. 10a is a shape of the cover (22) for said microorganism-detecting apparatus and is the shape observed from the connected side with the container (21); FIG. 10b mainly shows an outer appearance from one side of the cover (22) for said microorganism-detecting apparatus; FIG. 10c is a shape of the cover (22) for said microorganism-detecting apparatus and shows the view from the upper part (from the side of the cap (261)); and FIG. 11 shows the cross sectional view from the side of the container for said microorganism-detecting apparatus (the microorganism-collecting part (member) is omitted in FIG. 10 and FIG. 11).

In FIG. 6, the cover (22) is mainly composed of (i) a cover-constituting member (housing) (23) capable of receiving an ampule (24) where a medium is contained, (ii) a cover-constituting member (housing) (27) capable of receiving an ampule (28) where a disinfectant is contained, and (iii) a cap member (261). A protrusion (or projection) (32) is disposed at the bottom side of the cover-constituting member (23), i.e. at the connecting side with the cylindrical container (21). The protrusion (32) may be placed throughout the circumference of the cover-constituting member (23) whereby the connecting side portion of the cover-constituting member (23) with the container (21) becomes thick. Alternatively, the protrusion (32) may be sporadically placed in a projecting

manner on the inner side of the cover-constituting member (23) such as a projection of a crosspiece (sash bar) or the like. In a preferred embodiment, a screw cutting is done at the top of the cover-constituting member (23), i.e. at the end (34) at the side of the cap-material (261) as to engage with the screw threads made on the cover-constituting member (27) and, when the main body of the cover-constituting member (27) is rotated, a bottom (35) of the area where the ampule (28) in the cover-constituting member (27) is received can be pushed against the side of the container (21). Alternatively, the top of the cover-constituting member (23), i.e. an end (34) at the side of the cap member (261), is tightly engaged with an end of the cover-constituting member (27) at the side of the container (21) and, when the cover-constituting member (27) is pushed by sliding to the side of the container (21), the bottom (35) of the ampule (28)-receiving area of the cover-constituting member (27) can be easily pushed against the side of the container (21) whereby the ampule (24) can be pushed against the side of the container (21).

In the cover-constituting member (27), there are through holes at the bottom (35) of the receiving part for ampules (28) so that the disinfectant in the ampule flows down into the container (21) when the ampule (28) is broken. Like in the cover-constituting member (23), there are protrusions (or projections) (33) at the bottom side of the cover-constituting member (27), i.e. at the side of the ampule (24). Like in the afore-mentioned protrusions (32), the protrusions (33) may be placed throughout the circumference of the cover-constituting member (27) whereby the bottom (35) of the ampule-receiving part of the cover-constituting member (27) becomes thick at the side of the ampule (24). Alternatively, the protrusions (33) may be sporadically placed in a projecting manner on the inner side of the cover-constituting member (27). In a preferred embodiment, a screw cutting is done at the top of the cover-constituting member (27), i.e. at the end (37) at the side of the cap-material (261) so as to engage with the screw threads made on the cover-constituting member (261) and,

when the head of the cap member (261) is rotated, a bottom (36) of the cap member (261) can be pushed against the side of the ampule (28). Alternatively, the top of the cover-constituting member (27), i.e. an end (37) at the side of the cap member (261), is tightly engaged with the cap member (261) and, when the cap member (261) is pushed into by sliding to the side of the container (21), the bottom (36) of the ampule (28)-receiving area of the cover-constituting member (261) can be easily pushed against the side of the container (21) whereby the ampule (28) can be pushed against the side of the container (21).

First, when the main part of the cover-constituting member (27) is rotated (or pushed against the container side) and the bottom (35) of the receiving area for the ampule (28) in the cover-constituting member (27) is pushed against the side of the container (21), then said bottom (35) pushes down the ampule (24). Such a pushed-down ampule (24) is then supported with the slope of the protrusion (32) disposed on the cover-constituting member (23). As such, when the cover-constituting member (27) is pushed down to the side of the container (21), a tension would occur at a contacting point (A) of the ampule (24) with the slope of the protrusion (32) whereby the lower part of the ampule (24) is broken and the content therein is allowed to be released. Said content coming out from the ampule (24) flows down into a container (21) due to gravity and contacts with the microorganism-collecting end (26b). (Incidentally, in FIG. 6, through holes, attaching area of the microorganism-collecting part, fine structure of joint portions between the cover and the container, etc. are omitted.)

During the disinfection after incubation of the microorganism, when the top of the cap member (261) is rotated (or pushed against the side of the container) and the bottom (36) of the cap member (261) is pushed against the side of the ampule (28), then the bottom (36) of the cap member (261) pushes down the ampule (28). The pushed-down ampule (28) is then supported on the slope of the protrusion (33) placed at

the cover-constituting member (27). As such, when the cap member (261) is pushed against the side of the container (21), then a tension would occur at a contacting point (B) of the ampule (28) with the slope of the protrusion (33) whereby the lower part of the ampule (28) is broken and the content therein is allowed to be released. The content coming out from the ampule (28) flows down into a container (21) through the perforations placed at the bottom (35) of the ampule (28)-receiving part of the cover-constituting member (27) due to gravity and contacts with the incubated microorganism. It is preferred in view of the actual use that the ampule is made of fragile material such as glass or hard plastics and that, when it is applied with a mechanical force (particularly when the mechanical force is partly applied), the ampule is easily broken.

The medium containing the incubated pathogenic microorganism and the space in the container where there is a high possibility of contamination with the microorganism are disinfected and/or sterilized by a disinfectant. As such, the apparatus can be made into a safely disposable state. It is possible for the incubation system of the apparatus of the present invention that, since the beginning of incubation by supplying the medium into an apparatus (1), certain microorganisms (targets) are found/detected by observing the incubated medium and, at last, the apparatus is disinfected and/or sterilized to make it disposable while said incubation system is kept in a substantially tightly closed state to outside or to environment throughout the above steps. The microorganism-detecting apparatus of the present invention is useful with a view that, even if the target microorganism to be tested is not limited to pathogenic but ordinary (nonpathogenic), pollution of environment (or possibility thereof) is to be avoided. Further, the microorganism-detecting apparatus has an excellent portability and, therefore, the fact that said apparatus can be disinfected/sterilized to such an extent that it can be safely and surely disposed is valuable and appreciated. In addition,

it is clear from the structure of the apparatus of the present invention that said microorganism-detecting apparatus can be surely, easily and securely operated even by unskillful persons.

FIG. 12 and FIG. 13 show a constitution which is fundamentally present in another representative embodiment of the microorganism-detecting apparatus of the present invention, particularly with a means for disinfecting/sterilizing the cultured medium, etc. after incubation.

In FIG. 13, a cover (42) is mainly composed of (i) a cover-constituting member (43) capable of receiving an ampule (44) containing a medium, (ii) a cover-constituting member (47) capable of receiving an ampule (48) containing a disinfectant, and (iii) a cap member (49). At the bottom side of the cover-constituting member (43), i.e. at the side of the junction (59) with the cylindrical container (41), there is a protruding portion (or projection) (52). The protrusion (52) may be placed throughout the circumference of the cover-constituting member (43) whereby the cover-constituting member (43) becomes thick at the engaging side (59) thereof with the container (41) or the protrusion (52) may be sporadically placed in a projecting manner on the inner side of the cover-constituting member (43), such as a protrusion of a crosspiece or the like. In a preferred embodiment, a screw cutting is done at the top of the cover-constituting member (43), i.e. at the end (54) at the side of the cap member (49) so as to engage with the screw threads made on the cover-constituting member (47) and, when a head part (45) of the cover-constituting member (47) is rotated, a bottom (55) of the cover-constituting member (47) can be pushed against the side of the container (41). The bottom part (55) of the cover-constituting member (47) has one or more through holes whereby, when an ampule (48) is broken, the disinfectant contained therein can flow into a container (41) as mentioned below (incidentally, in FIG. 13, the through hole is not shown).

A protruding portion (or projection) (53) is disposed

at the bottom side of the cover-constituting member (47), i.e. at the side of an ampule (44), like the cover-constituting member (43). The protrusion (53) may be disposed, like the above protrusion (52), throughout the circumference of the cover-constituting member (47) whereby the cover-constituting member (47) becomes thick at the bottom side (55) of the ampule side (44). Alternatively, the protrusion (53) may be sporadically placed in a projecting manner on the inner side of the cover-constituting member (47). In a preferred embodiment, a screw cutting is done at the top of the cover-constituting member (47), i.e. at the end (57) at the side of the cap member (49) so as to engage with the screw threads made on the cap member (49) and, when a head part of the cap member (49) is rotated, a bottom (56) of the cap member (49) can be pushed against the side of the ampule (48).

First, when a head part (45) of the cover-constituting member (47) is rotated so that the cover-constituting member (47) is pushed against the side of the container (41), a bottom (55) of the cover-constituting member (47) pushes down the ampule (44). The pushed-down ampule (44) is then supported by a slope of the protrusion (or projection) (52) disposed in the cover-constituting member (43). As the cover-constituting member (47) is pushed further against the side of the container (41), a tension becomes higher at the contacting portion (A) between the ampule (44) and a slope of the protrusion (52) whereupon the lower area of the ampule (44) is broken and the content therein is allowed to release. The content coming out from the ampule (44) flows down into the container (41) because of the force of gravity and comes in contact with the microorganism-collecting end (46b). (Incidentally, in FIG. 13, a through hole at (59), a connecting area for the microorganism-collecting member, the detailed structure of the engagement between the cover and the container, etc. are omitted.)

At the disinfecting stage after incubation, when the bottom (56) of the cap member (49) is pushed against the side of the ampule (48) by rotating the top portion (461) of the cap member (49), a bottom (56) of the cap member (49) pushes down the ampule (48). The pushed-down ampule (48) is then supported by a slope of the protrusion (53) disposed in the cover-constituting member (47). As the cap member (49) is pushed further against the container (41) side, a tension would occur higher at the contacting area (B) of the ampule (48) with the slope of the protrusion (53) whereupon the lower part of the ampule (48) is broken and the content therein is allowed to release. The content coming out from the ampule (48) flows down by gravity into a container (41) through a perforated hole (through hole) (not shown) formed in the bottom (55) of the cover-constituting member (47) and comes in contact with the incubated microorganism. It is preferred in terms of actual use that the ampule is made of fragile material including glass, hard plastic material, etc. whereby it can be easily broken upon application (especially, partial application) of mechanical force.

The medium containing the incubated pathogenic microorganisms, etc. and the space of the container having a high possibility of contamination with the microorganisms are disinfected and/or sterilized by a disinfectant. As such, the apparatus can be made safely disposable. It is possible for the incubation system of the apparatus of the present invention that, since the beginning of incubation by supplying the medium into an apparatus (1), certain microorganism is found/detected by observing the incubated (cultured) medium and, at last, the apparatus is disinfected/sterilized to make it disposable while said incubation system is kept in a substantially tightly closed state to outside (surrounding atmosphere) or to environment throughout the above steps. The microorganism-detecting apparatus of the present invention is useful and characteristic with a view that the microorganisms to be tested is not limited to pathogenic ones and pollution of environment (or possibility thereof) is to be avoided even if

the microorganisms to be tested are ordinary ones. Further, the microorganism-detecting apparatus has an excellent portability and an unique arrangement and, therefore, the fact that said apparatus can be disinfected/sterilized to such an extent that it can be safely and surely disposed is valuable and highly appreciated. In addition, it is clear and apparent from the arrangement of the apparatus according to the present invention that said microorganism-detecting apparatus can be surely, securely and readily operated even by unskillful persons.

FIG. 14 shows a constitution which is fundamentally present in one representative embodiment of the microorganism-detecting apparatus of the present invention, like those as shown in FIG. 12 and FIG. 13. It uniquely has a means for disinfecting and/or sterilizing the cultured medium, etc. after incubation.

In FIG. 14, the cover is mainly composed of a cover-constituting member (62) which is capable of receiving and holding (i) an ampule containing a medium and (ii) an ampule containing a disinfectant. At the side contacting with the surface of ampules (64/68), protrusions (or projections) (73 and 74) are installed in a form of grooves (or of ridges) on the inner side of the cover-constituting member (62). Refer, for example, to FIG. 14(c). When a ring (77) (cf. FIG. 14(a)) having a slightly smaller diameter than a diameter (or outer diameter) of the cover (62) accommodating the ampule is prepared and passed from a top (71) of the cover (62) to the side of a container (61), said ring (77) smoothly passes at the area of (72) in the cover since there is no projection there but, after the area (72), tension due to the protrusions (73 and 74) is applied to the ampule and forces the ampule to be broken from its side. When the protrusions (73 and 74) are made to come closer to the ampule upon coming nearer the container (61), then stronger tension bears on the ampule as the ring (77) passes from the top (71) of the cover (62) to the side of the container (61). Incidentally, in FIG. 14, a perforated hole (through hole) for the medium and the

disinfectant each coming out from each ampule (64/68) into a container (61), an area where the microorganism-collecting part is attached, the detailed arrangement of engaging portion between the cover and the container, etc. are omitted.

In another embodiment, the cover is mainly composed of a cover-constituting member (62) capable of receiving and holding (i) an ampule (64) containing the medium and (ii) an ampule (68) containing the disinfectant as same as that mentioned hereinabove. Alternatively, it is also possible that a ring (77) is previously installed on the area (76) of the cover (62) at the container (61) side and the ring (77) is raised to the top (71) side of the cover (62) whereby breaking is started from the lower ampule (64) as same as above.

In still another embodiment, the cover is mainly composed of a cover-constituting member (62) capable of receiving and holding (i) an ampule (64) containing a disinfectant and (ii) an ampule (68) containing the medium. A ring (77) prepared already is passed to a container (61) from the top (71) of the cover (62) so that the ampule (68) is broken from its side. The ring (77) which was moved for breaking the ampule (68) as such is then moved to the middle portion of the cover (62) and either stopped there or moved upward followed by taking away from the top (71). For breaking another ampule (64), a ring (77) (hereinafter, referred to as (77')) (not shown) is previously installed on the area (76) of the cover (62) at the side of the container (61) and said ring (77') is raised to the top side (71) of the cover (62) whereby the ampule (64) is broken from the lower part. Alternatively, it is also possible that the cover is mainly composed of a cover-constituting member (62) capable of receiving and holding (i) an ampule (64) containing the medium and (ii) an ampule (68) containing the disinfectant and that the ring (77) and the ring (77') are moved in a reversed order as compared with the above, whereby the medium is first supplied to the container (61) and, after incubation, the disinfectant is supplied to the container (61).

FIG. 15 illustrates a fundamental arrangement required in a representative specific embodiment of the microorganism-detecting apparatus according to the present invention, particularly the fundamental arrangement for disinfecting and/or sterilizing the cultured medium, etc. after incubation.

In FIG. 15, the cover (82) is mainly composed of a cover-constituting member capable of receiving and storing (i) an ampule (84) containing a medium and (ii) an ampule (88) containing a disinfectant. In the cover-constituting member (82), there are pushing-down members (91 and 93) at the top (99) which is an opposite side to the container (81). Said pushing-down member (91) is equipped with a part (92) having a shape for allowing a force to be applied to the top of the ampule (84) in a stable manner. Similarly, another pushing-down member (93) is equipped with a part (94) (in the drawing, this symbol is omitted) having a shape for allowing a force to be applied to the top of the ampule (88) in a stable manner.

First, when the pushing-down member (91) is pushed in, the ampule (84) is pushed down via the part (92). Then tension would occur at a contacting point (95) of the ampule (84) with a slope (or crosspiece-like projection) (not shown) formed at the side near the container (81) and on the inner side (ampule-receiving side) of the cover (82). Said tension forces the lower part of the ampule to be broken whereby the medium is taken out from the ampule and comes into the container (81) by gravity through one or more perforated holes (through hole) (not shown) in the engaging portion (89). When another pushing-down member (93) is pushed in after incubation of the microorganism, the ampule (88) is pushed down via the part (94) whereupon a tension would occur at a contacting point (96) of the ampule (88) with a slope (or crosspiece-like projection) (not shown) located at the side near the container (81) and on the inner side (ampule-receiving and storing side) of the cover (82) and forces the lower part of the ampule to be broken whereby the disinfectant is released

from the ampule and comes into the container (81) through the through hole (perforated hole) (not shown) of the engaging portion (89) by gravity.

The pushing-down members (91/93) may be installed at the top (99) of the cover (82) in such a manner that they can be pushed in by a force from outside which is more than certain degree. Said pushing-down members (91/93) may also be engaged with the top member (99) by means of screws and, in that case, said members (91/93) are in such a constitution that they can be pushed against the side of the container (81) by rotating them.

Anyway, the constitution is to be in such a manner that, until there is a need of taking out the medium and the disinfectant in use of the microorganism-detecting apparatus according to the present invention, the bag-shaped members such as ampules are sustained freely from being broken and releasing its content but, once necessary, each of the contents can be freely or optionally released therefrom.

FIG. 16 illustrates a fundamental arrangement required in a representative specific embodiment of the microorganism-detecting apparatus according to the present invention, particularly the fundamental arrangement for disinfecting and/or sterilizing the cultured medium, etc. after incubation.

In FIG. 16, a cylindrical cover (102) is mainly composed of (i) a cover-constituting member (112) which constitutes an almost lower half of the cover (102) and (ii) another cover-constituting member (111) which constitutes an almost upper half of the cover (102). At least one of the cover-constituting members (112 and 111) is made in such a manner that it can rotate against another by applying a force thereto along the circumference of the cover (102). In the cover (102), both an ampule (104) containing a medium and another ampule (108) containing a disinfectant are received and held. The inner side of the cover-constituting member (112) is equipped with a protrusion (113) which contacts

the ampules (104 and 108). The cover-constituting member (111) is equipped with holes (124 and 128) (the symbols are omitted in the drawing) which can receive the respective ampules (104 and 108). A cover (102) is constituted in such a manner that the cover-constituting member (111) is located on the cover-constituting member (112) (i.e., at the opposite side of the container (101)) and an ampule (104) is placed in a hole (124) in the cover-constituting member (111) while another ampule (108) is placed in another hole (128). In the cover-constituting member (112), the ampules (104 and 108) placed as such are located so as to encounter to the protrusion (112) as in (a) of FIG. 16.

When, for example, the upper cover-constituting member (111) is rotated to an extent of 90 degrees to an anticlockwise direction, a tension would occur at the contacting part (115) of the ampule with the protrusion (113) whereupon the ampule (104) is broken and the medium contained therein is flown out. The medium coming out as such comes into a container (101) through one or more perforated holes (not shown) at the engaging portion of the cover (102) with the container (101) by gravity and contacts with the microorganism-collecting end (106b). When the above cover-constituting member (111) is further rotated to an anticlockwise direction (totally rotated to an extent of 180 degrees), a tension would occur at the contacting part of the ampule (108) (not shown) with a protrusion (113) whereby the ampule (108) is broken and the disinfectant contained therein is flown out. The disinfectant discharged as such comes into a container (101) by gravity through the perforated hole (not shown) at the engaging portion (joint) of the cover (102) with the container (101) and disinfects/sterilizes the apparatus including incubated microorganism. Alternatively, when the above cover-constituting member (111) is rotated to a clockwise direction instead of rotating it to an extent of 180 degrees to an anticlockwise direction as mentioned above, a tension would occur at a contacting part (116) of the ampule (108) with the protrusion (113) where by the ampule (108) is broken and the

disinfectant contained therein is flown out.

The microorganism-detecting apparatus of the present invention can be made (i) in such a structure that a mechanism for breaking the bag-shaped member such as ampule does not work by being equipped with a pawl or the like so that the bag-shaped member such as ampule is sustained freely from breakage and the content in the ampule is not released until there is a need of releasing the medium or the disinfectant or (ii) in such a structure that an arrangement is made wherein, unless a certain force is applied, rotation or pushing is not possible so that the mechanism for breaking the bag-shaped member such as ampule does not work. The microorganism-detecting apparatus of the present invention may also be in such a manner that a protector such as a cap is applied to the mechanism for breaking the bag-shaped member so that the content therein is not released by breakage of the bag-shaped member such as ampule until there is a need of releasing the medium or the disinfectant.

FIGS. 17 to 33 illustrate other representative specific examples of the microorganism-detecting apparatus of the present invention for their fundamental constitution, particularly the fundamental constitution as a means for disinfecting and/or sterilizing the cultured medium, etc. after incubation.

FIG. 17 mainly shows the external appearance and shape of said microorganism-detecting apparatus while its main cross section is shown in FIG.18.

FIGS. 19 to 33 show each of the materials constituting said microorganism-detecting apparatus in some more detail. Incidentally, in those drawings, a microorganism-collecting part or the like is sometimes omitted for better understanding.

A main appearance of a cap member (561) is shown in FIG. 19 while the cross sectional shape of said cap member (561) is mostly shown in FIG. 20. FIG. 21 is mostly a cross sectionally perspective view of the lower area seen from the

section I-I' of said cap member. An appearance of the cover-constituting member (247) constituting said microorganism-detecting apparatus is mostly shown in FIG. 22 while the cross sectional view of said cover-constituting member (247) is mostly shown in FIG. 23. FIG. 24 mostly shows the appearance of said cover-constituting member (247) from the direction of II while FIG. 25 mostly shows the appearance of said cover-constituting member (247) from the direction of III. FIG. 26 mostly shows the appearance of the cover-constituting member (243) constituting said microorganism-detecting apparatus, FIG. 27 mostly shows the cross sectional view of said cover-constituting member (243), FIG. 28 mostly shows the appearance of said cover-constituting member (243) from the direction IV and FIG. 29 mostly shows the appearance of said cover-constituting member (243) from the direction V, respectively. The appearance of the container (241) which constitutes said micro-organism-detecting apparatus is mostly shown in FIG. 30, and the cross sectional view of said container (241) is mostly shown in FIG. 31. FIG. 32 mostly shows the appearance of said container (241) from the direction of VI and FIG. 33 mostly shows the cross sectional view of said container (241) at the G-G' section in said microorganism-detecting apparatus equipped with the microorganism-collecting end (246b).

In FIGS. 17 and 18, the cover (242) is mainly composed of (a) a cover-constituting member (243) which is capable of receiving and holding an ampule (244) containing a medium; (b) a cover-constituting member (247) which is capable of receiving and holding an ampule (248) containing a disinfectant; and (c) a cap member (249, 561). A protrusion (252) is installed (formed) at the bottom of the cover-constituting member (243), i.e. at the connecting side (259) with the cylindrical container (241). The protrusion (252) may be placed on the entire circumference of the cover-constituting member (243) whereby said cover-constituting member (243) becomes thick at the connecting part (259) side

with the container (241). Alternatively, said protrusion may be placed (formed) in such a manner that the protrusions are located in a projected manner at some places on the inner side of the cover-constituting member (243), e.g. those in a form of a crosspiece (sash bar). In an example shown in the drawing, it is noted that said protrusion is installed (formed) having a wedge-shaped cross section at four sites as given in FIG. 28. Such a shape of said protrusion (252) is effective in giving a big breaking force at the contacting point A with the ampule (244). Other examples of the shape whereby such a function and merit can be expected may be suitably selected by anyone skilled in the art from those which have been widely known in the areas of machines and instruments, particularly in the area of containers. In a preferred embodiment, a protrusion (297) is formed at the top side of the cover-constituting member (243), i.e. at the cap member (249) side terminal area, so as to engage with a engaging recess part (299) formed on the cover-constituting member (247) and, when the head part (245) of the cover-constituting member (247) is pushed to the direction of the container (241), the bottom (235) of the cover-constituting member (247) can be pushed against the side of the container (241).

In an example shown in this drawing, said protrusion (297) is formed at four places on the inner wall of a cylindrical material (243) as same as the protrusion (252) which is shown in FIG. 28 and, corresponding to that, said connection recess part (299) is formed at four places on the outer wall of the member (247) at the side of the container (241). There is no particular limitation for their structures in connection with such protrusions (297) and connection recess parts (299) as long as they can engage each other for setting the cover-constituting member (247) at the inner side of the cover-constituting member (243) and the cover-constituting member (247) can slide to the side of the container (241) preferably at the breaking stage of the ampule (244). The shape and structure can be suitably selected from those which are widely known in the areas of machines and

instruments, particularly in the area of containers, by anyone skilled in the art provided that the function and the merit as mentioned above can be expected. At the bottom (235) of the cover-constituting member (247), there are one or more through holes (perforated holes) (cf. FIG. 25) so that, when the ampule (248) is broken, the disinfectant contained therein can flow down into the container (241) as mentioned below. At the bottom side of the cover-constituting member (247), i.e. at the inner ampule (244) side, there is a protrusion (253) by the same manner as in the case of the cover-constituting member (243). Like the above-mentioned protrusion (252), the protrusion (253) may be made on the entire circumference of the cover-constituting member (247) whereby the cover-constituting member (247) becomes thick at the bottom of the ampule (244) side thereof. Alternatively, said protrusion (253) may be made in such a manner that the projected parts are partially available at several places on the inner side of the cover-constituting member (247) (such as a protrusion in a form of crosspieces). In an example shown in this drawing, it is noted that, as shown in FIG. 24, said protrusion (253) is installed in such a manner that it has a wedge-like cross section at four sites. In a preferred embodiment, thread cutting is made at the top side of the cover-constituting member (247), i.e. on the end (245) at the cap member (249) side, so as to gear with the screw (257) made on the cap member (249) and, when the head of the cap member (249) is rotated, the bottom (256) of the cap member (249) can be pushed against the side of the ampule (248).

As well noted by referring to FIG. 18 for example, when the head (245) of the cover-constituting member (247) is first pushed down to the direction of the container (241) and then the cover-constituting member (247) is pushed into the cover-constituting member (243), the bottom (235) of the cover-constituting member (247) pushes down the ampule (244). The pushed-down ampule (244) is then supported by a slope of the protrusion (252) made on the cover-constituting member (243). As such, a tension would occur at the contacting point (A) of

the ampule (244) with the slope of the protrusion (252) as the cover-constituting member (247) is pushed down to the side of the container (241) whereby the lower part of the ampule (244) is broken and the content therein is allowed to release. The content released from the ampule (244) flows into the container (241) by gravity passing through hole (perforated hole) (cf. FIG. 29) made in the first partition member (296) and contacts with the microorganism-collecting end (246b). (Incidentally, in FIG. 28, the ampule (244) is omitted and, further, in FIG. 29, the microorganism-collecting part which is to be made at the central site is omitted.) In an example shown in this drawing, there are four through holes in a fan-like shape as will be noted by referring to FIGS. 28 and 29.

During the disinfecting stage after incubation of the microorganism, when the top (561) of the cap member (249) is rotated and the bottom (256) of the cap member (249) is pushed against the side of the ampule (248), the bottom (256) of the cap member (249) pushes down the ampule (248). The pushed-down ampule (248) is then supported by the slope of the protrusion (253) made on the inner side of the cover-constituting member (247). As the cap member (249) is rotated and pushed against the side of the container (241), a tension would occur at the contacting point (B) of the ampule (248) with the slope of the protrusion (253) whereby the lower part of the ampule (248) is broken and the content therein is allowed to release. The content coming out from the ampule (248) is flown into the container (241) by gravity passing through the perforated holes (cf. FIG. 25) made at the bottom (235) of the cover-constituting member (247) and contacts with the incubated microorganism. (Incidentally, in FIG. 24, the ampule (248) is omitted.) In an example shown in this drawing, there are four perforated holes (through holes) in a sectoral form as will be noted by referring to FIGS. 24 and 25. It is preferred in view of convenient use that the ampule is made of glass, hard plastics, etc. so that it can be easily broken upon application of mechanical force (particularly upon application of a

mechanical force partially).

In the microorganism-detecting apparatus shown in said drawings, the ampule containing the medium can be broken by mere sliding and pushing of the cover-constituting member and the cap member (both are screwed and unitedly movable) to supply the medium for incubation to the container while another ampule containing a disinfectant/sterilizer can be broken to release the disinfectant/sterilizer contained therein into a container for incubation only when the cap member screw-fitted with the cover-constituting member accommodating said disinfectant/sterilizer ampule is rotated and pushed thereagainst. Therefore, said microorganism-detecting apparatus is excellent in terms of actual use.

In the microorganism-detecting apparatus of the present invention, it is also possible that a lock function is installed so that initiation of said sliding operation does not take place unless a certain force is applied thereto. It is further possible that initiation of the rotary movement of the cap member does not take place unless a certain force is applied thereto. With regard to a structure giving such a lock function, those which are known in the area of containers may be selected and used. There is no particular limitation for the size of said microorganism-detecting apparatus but, in terms of portability, the total size will be, for example, about 5 to 40 cm in length (preferably, about 10 to 30 cm or, more preferably, about 15 to 25 cm) and about 3 to 50 mm in diameter (preferably, about 6 to 30 mm or, more preferably, about 8 to 25 mm). The size of said microorganism-detecting apparatus may be other than those given hereinabove and freely selected and designed by anyone skilled in the art depending upon the object and operability and also by taking the quality, etc. of the stuff constituting said apparatus into consideration.

FIGS. 34 to 51 illustrate other representative specific examples of the microorganism-detecting apparatus of the present invention for their fundamental constitution,

particularly the fundamental constitution as a means for disinfecting and/or sterilizing the cultured medium, etc. after incubation.

FIG. 34 illustrates the assembling of the parts which constitute the microorganism-detecting apparatus according to the present invention. FIG. 34 shows a cap member (761), an ampule (748) wherein a disinfectant is contained, a cover-constituting member (747) capable of receiving and holding the ampule (748), an ampule (744) containing a medium, a cover-constituting member (743) capable of receiving and storing the ampule (744), a microorganism-collecting member (746) (comprising a rod-shaped element (746a) and a microorganism-collecting end (746b)) and a container (741). The assembling concept as shown in FIG. 34 is applicable to the microorganism-detecting apparatus of the present invention shown in FIGS. 17 to 33 as well.

FIG. 35 mostly shows the cross-sectional shape of said microorganism-detecting apparatus. FIG. 36 mostly shows the appearance of the cover-constituting member (747) constituting said microorganism-detecting apparatus which is similar to that as shown in FIG. 22. FIG. 37 mostly shows the cross-sectional view of said cover-constituting member (747) along the line M-M'; FIG. 38 mostly shows the appearance of said cover-constituting member (747) observed from the direction of VII; and FIG. 39 mostly shows the appearance of said cover-constituting member (747) observed from the direction of VIII (In FIGS. 38 and 39, a bridge part at the end of said cover-constituting member (747) and at the container side, connecting to the protrusion (753), is observed wherein the thing which is shown as if obliquely crossing to said bridge is a "flash" which is incidentally formed upon molding of the plastic resin and, preferably, such a flash is to be detached in the actual product.)

FIG. 40 mostly shows the cross-sectional shape of the cover-constituting member (747) which constitutes said microorganism-detecting apparatus similar to that shown in FIG. 23 wherein (778) is a small convex ridge formed on the

inner wall of the cover-constituting member (747) while (753) is a protrusion for breaking the ampule (748). Unlike the (253) shown in FIG. 23 (and also in FIG. 24), this (753) is formed only at one place (cf. FIG. 38) and, in addition, the shape is different (cf. FIG. 40). In the microorganism-detecting apparatus, such an ampule-breaking function and a structure for enabling said function are also characteristic features of the present invention. Accordingly, an apparatus and materials (members) having such a function constitute a part of the present invention.

As will be noted from FIG. 37, there is a concave (凹) and shallow groove (777) in said cover-constituting member (747). Said groove (777) is formed in such a manner that, as will be illustrated later, it can be engaged with a small convex ridge (781, 782, 783, etc.) formed on the inner wall of the cover-constituting member (743) which constitutes said microorganism-detecting apparatus whose cross-sectional shape is mostly shown by FIG. 44. Although, in an example as shown in said drawing, length of all of four grooves (777) is same, numbers and length of the groove may be suitably changed upon necessity. In FIG. 40, no perforated hole is illustrated through which a disinfectant (liquid) contained in the ampule (748) flows down by gravity when the ampule (748) is broken, but said perforated hole (through hole) can be easily understood by referring to FIGS. 38 and 39.

In FIGS. 35 and 40, it is shown that the inner diameter of the about one-third portion of the cover-constituting member (747) at the side of the container (741) is either broader than or the same as the inner diameter at the side of its cap member (761) although it is also preferred that the inner diameter is narrower than that at the side of its cap member (761) so that the movement of the receiving ampule (748) is restricted.

FIG. 41 mostly shows the appearance of the cover-constituting member (743) which constitutes said microorganism-detecting apparatus which is the same as that as shown in

FIG. 26. FIG. 42 mostly shows the appearance of the cover-constituting member (743) observed from the direction of IX; and FIG. 43 mostly shows the appearance of said cover-constituting member (743) from the direction of X.

By referring to FIGS. 35, 42 and 43, the presence of the through holes (perforated holes) through which the medium (liquid) contained in the ampule (744) flows down by gravity can be easily understood. In this example, there are three perforated holes (through holes) in a shape of a fan. When the ampule (748) is broken, the disinfectant (liquid) contained in said ampule (748) flows down by gravity through said perforated holes and comes into the container (741).

There are small convex (凸) ridges (781, 782, 783 and 784) on the inner wall of said cover-constituting member (743). In FIG. 44, there are two small convex ridges (781 and 783) in the plane N-N' (cf. FIG. 45 which illustrates a cross section along the plane N-N') but, in the P-P' plane, there are four (781, 782, 783 and 784) (cf. FIG. 46 which illustrates a cross section along the plane P-P'). FIG. 47 shows a cross section along the plane Q-Q'. The small convex ridge (781) ranges consecutively to (785) and further extends to (752) while, among others such as (782), it ranges to (786) but has no protrusion such as (752). Unlike (252) shown in FIG. 27, there is only one (752) in the present microorganism-detecting apparatus and its shape is different as well.

In the microorganism-detecting apparatus of the present invention, such an ampule-breaking function and a structure which makes it possible are also the characteristic features of the present invention and apparatus and materials (members) having such functions also constitute a part of the present invention.

FIG. 48 shows the oblique outer view of the cover-constituting member (743) made up of a transparent (or translucent) stuff in a partly perspective manner. In said drawing, the arrangement of small convex ridges (781, 782 and also 785 and 752 ranging therefrom) formed on the inner wall

of the cover-constituting member (743) is visible and understandable. (781) extends to the cover-constituting member (747)-receiving side longer than (782). Said small convex ridges may be made in such a manner that the convex is made larger (i.e. projected to a higher extent) from the place (785) ranging therefrom for allowing the received ampule (744) to be loosely fixed. The area (790) at the outer wall of the cover-constituting member (743) is made hardly slippery by forming a finely indented surface, like a frosted glass. Such a finely indented surface, like a frosted glass, may be at either a part of or whole of the cover-constituting member (743).

The basic shape of the apparatus shown in FIGS. 34 to 51 is the same as that of the microorganism-detecting apparatus of the present invention shown in FIGS. 17 to 33 but its characteristic feature is as follows:

Until an initiation of incubation, said cover-constituting member (747) is set free by means of a locking mechanism from pushing into said cover-constituting member (743) to break the ampule (744) received in said cover-constituting member (743), while, upon the initiation of incubation, the engagement is easily unlocked by merely rotating said cover-constituting member (747) against said cover-constituting member (743) whereby said cover-constituting member (747) can be pushed into said cover-constituting member (743) so that the ampule (744) is broken and the medium can be supplied to the container (741).

FIGS. 49 to 51 illustrate the conceptual outlines of said locking mechanism and unlocking thereof. At the state prior to use of said microorganism-detecting apparatus, when the cover-constituting member (747) is inserted into the cover-constituting member (743) in such a manner that (i) a long and convex (凸) small ridge (781) formed on the inner side of the cover-constituting member (743) and (ii) a concave (凹) and shallow groove (777) formed on the inner side of the cover-constituting member (747) are not engaged each other, both

said cover-constituting members are fixed due to a big frictional engaging force between the convex small ridge (781) and the outer surface of said member (747). As a result, each member stays nearly at the position as shown by FIG. 49. In other words, the fixation is in such a manner that said member (747) cannot be pushed into said member (743) (i.e. against the side of the container) beyond said stopping position.

When, upon breaking the ampule (744); for example, the cover-constituting member (747) is rotated to the direction as shown by an arrow in FIG. 49, (i) the convex small ridge (781) and (ii) the concave and shallow groove (777) are engaged each other as shown in FIG. 50, so that the frictional engaging force generated between the convex small ridge (781) and the outer surface of the cover-constituting member (747) disappears whereupon the cover-constituting member (747) can now be pushed to the direction further as shown by an arrow in FIG. 50. Then, when the cover-constituting member (747) is inserted as shown in FIG. 51, the bottom of the cover-constituting member (747) pushes the head of the ampule (744) whereupon the ampule is pushed to the protrusion (752) followed by breakage. In this example, (i) the convex ridges (four in total) formed on the inner side of the cover-constituting member (743) and (ii) the concave shallow grooves (four in total) (recessing parts) formed at the outer side of the cover-constituting member (747) are engaged each other at the end. Simultaneously, the engaging surface of the cover-constituting member (743) and that of the cover-constituting member (747) are tightly engaged each other at the side of the cap member (761). Thus, the inner wall of the cover-constituting member (743) and the outer wall of the cover-constituting member (747) are tightly contacted each other, thereby achieving a tight sealing to some extent. In the microorganism-detecting apparatus, such a locking mechanism and a structure for making it possible or available are a part of the characteristic features of the present invention and the apparatus having such a mechanism (or

function) and materials (members) thereof constitute a part of the present invention.

The microorganism-detecting apparatus of the present invention as shown in FIGS. 34 to 51 are the same as those shown in FIGS. 17 to 33 in terms of basic shape, size, etc. and, accordingly, details of other materials will be and is to be understood similarly.

FIG. 52 partly shows a partial cross sectional view of the connecting part (776a) of the cover-constituting member (743) with the container (741). It is understood that an end of the microorganism-collecting member (746) can be inserted into and fixed with the inlet (789) for the microorganism-collecting part (member). At the basement of said inlet (789), there is one or more perforating holes for communicating a medium and a disinfectant. As will be noted by referring to FIG. 52, a protrusion (789a) is formed in a manner of surrounding the inlet (789). When an end of the container (741) is screwed into a connecting part (776a) of the cover-constituting member (743), said protrusion (789a) assists a close engagement (connection) of said cover-constituting member (743) with the container (741). In other words, when a plastic resin such as polypropylene is used as a constituting stuff for the engaging portions connecting between said cover-constituting member (743) and the container (741), it is possible to tightly seal it through utilizing the elasticity of the stuff for the members.

In the microorganism-detecting apparatus according to the present invention, the structure of such a engaging part (776a) of the cover-constituting member (743) with the container (741) is also one of the characteristic features of the present invention and the apparatus having such a function and materials thereof also constitute a part of the present invention.

FIGS. 53 to 69 illustrate other representative specific embodiments of the microorganism-detecting apparatus

according to the present invention for their fundamental constitution, particularly the fundamental arrangements suitable for disinfecting and/or sterilizing the cultured medium, etc. after incubation.

In these drawings, the microorganism-detecting apparatus according to the present invention is shown which has a mechanism for allowing us to keep and carry it securely and which is designed in a manner that we can avoid the breakage of (i) an ampule containing a disinfectant and (ii) an ampule containing a medium.

FIGS. 53, 55, 57, 59, 61, and 63 show a perspective view of the microorganism-detecting apparatus according to the present invention, respectively. FIG. 54 illustrates the assembling of the parts 1245 (and 1561) and 1243 for the microorganism-detecting apparatus of FIG. 53. FIG. 56 illustrates the assembling of the parts 1245 (and 1561) and 1243 for the microorganism-detecting apparatus of FIG. 55. FIG. 58 illustrates the assembling of the parts 1561 and 1245 for the microorganism-detecting apparatus of FIG. 57. FIG. 60 illustrates the assembling of the parts 1561 and 1245 for the microorganism-detecting apparatus of FIG. 59. FIG. 62 illustrates the assembling of the parts 1561, 1245 and 1243 for the microorganism-detecting apparatus of FIG. 61. FIG. 64 illustrates the assembling of the parts 1561, 1245 and 1243 for the microorganism-detecting apparatus of FIG. 63.

In FIGS. 53 and 57, a guide groove (guide space) (1004, 1007) is formed at two sites while the guide groove (guide space) is formed at one site in FIGS. 55 and 59. In FIG. 61, the member (1243) has two guide grooves (guide spaces) (1004); the member (1245) has two stoppers (1005) and two guide grooves (guide spaces) (1007); and the cap member (1561) has two stoppers (1008)). In FIG. 63, the member (1243) has one guide groove (guide space) (1004); the member (1245) has one stopper (1005) and one guide groove (guide space) (1007); and the cap member (1561) has one stopper (1008). One or optionally more guide grooves (guide spaces) can be formed in each member. Although, in the drawings, the

guide portion (1004) is formed through the side wall of the member (1243), it is possible to form a shallow guide groove by reducing the inner side wall of the member (1243) so as to make it partially thin (by cutting the inner side wall thereof) without a through hole. In the drawings, the guide (1004) is formed in the side wall of the member (1243) and a stopper (1005) is formed on the side wall of the member (1245) at the engaging side with the member (1243). Alternatively, the guide (1004) may be formed in the side wall of the member (1245) and a stopper (1005) may also be formed on the side wall of the member (1243). Similarly, a guide portion (1007) and a stopper (1008) can be formed in the members. The shape of the guide groove (guide space) is not limited to but includes a L shape, those as illustrated in FIG. 70 and the like.

FIG. 65 shows an appearance of the members (1561, 1245) in another representative embodiment of the microorganism-detecting apparatus according to the present invention. FIG. 66 shows an appearance of the members (1561, 1245) in another representative embodiment of the microorganism-detecting apparatus according to the present invention. FIG. 67 shows the member 1243 capable of engaging with the members (1245 (and 1561)) illustrated in FIG. 65. FIG. 68 is a schematic diagram for explaining the relationship between the guide portion (1004) and the stopper (1005). FIG. 69 is an enlarged partial view in connection with the relationship between the guide portion (1004) and the stopper (1005).

Prior to use of the microorganism-detecting apparatus according to the present invention, the member (1245) is engaged with the member (1243) (FIG. 54) and the stopper (1005) is positioned at the upper side of the guide (1004) (FIG. 53). Referring to FIG. 68, the stopper (1005) is located at the site B in FIG. 68-1.

Upon breaking the ampule (upon use thereof), the stopper (1005) is moved beyond a pawl portion (neck) (A) (FIG. 68-2 and FIG. 69) by turning the member (1245) whereby

the member (1245) can be pushed into the member (1243). Thus, the stopper (1005) can be moved to the position (D) (In FIG. 53, it corresponds to the stopper (1005')). If necessary, a pawl portion (neck) (C) may be formed in order to fix the stopper (1005) (FIG. 68-3). In FIGS. 55 to 64, each apparatus has the same mechanism and action.

FIG. 65 shows an embodiment of the microorganism-detecting apparatus according to the present invention wherein a means for securing the adhesion (sealing) between the member (1243) and the member (1245) is set at the surface region (1351) on the outer wall of the member (1245). The adhesion (sealing) may be achieved by various techniques including frosting of surface, coating with rubber, etc. and the useful technique can be selected from those known to a person skilled in the art such as the field of container. Although FIG. 65 also shows the possibility that a means for securing the adhesion between the member (1243) and the member (1245) will be made at the surface region (1350) on the outer wall of the member (1245), said means is generally disposed at the surface region (1351) when the stopper (1005) -guide (1004) system is formed.

FIG. 67 shows an embodiment of the microorganism detecting apparatus according to the present invention wherein a means for securing the adhesion between the members (deeply shadowed area) is installed on the inner wall of the member (1243) which corresponds to the surface region (1351) formed on the member (1245). Similarly to FIG. 65, FIG. 67 also show the possibility that a means for securing the adhesion will be made on the slantingly lined area. In FIG. 67, a shallow groove (1360) is formed so as to facilitate an insertion of the stopper (1005) into the guide portion (1004).

In FIG. 66, the stopper (1352) has a structure capable of being flexibly pressed down against the outer wall side of the member (1245) upon insertion of the member (1245) into the member (1243). The stopper (1352) is movable inwardly and outwardly by reflecting a force. In addition, the mechanism required in keeping and carrying the apparatus

without the breakage of (a) the ample for a medium and (b) the ample for a disinfectant may include an engagement of a convex portion formed on one member with a concave portion formed on another member for (i) the members (1245) and (1243) and for (ii) the members (1561) and (1245), a combination of a stopper removable from the detecting apparatus therewith. Said mechanism may comprise a mark attached thereto, which indicates a position for fixing each member.

In accordance with the present invention, it has been found that it is possible to measure how many viable microorganism cells are present prior to an initiation of incubation, substantially in a closed system, such as the microorganism-detecting apparatus of the present invention. Utilization of the microorganism-detecting apparatus of the present invention enables us to easily, securely and portably estimate the number of viable microorganism cells present in foods, cooking tools and the like. Accordingly, it is possible to estimate a degree of pollution quickly for various samples including cooking utensils, e.g. kitchen knife and chopping board, foods, and beverages or surroundings, by using the microorganism-detecting apparatus of the present invention. Through the use of the apparatus of the present invention, we can easily, conveniently, securely and safely judge what kind or species of microorganism it is and/or determine how much amount of microorganisms are present.

The measurement of viable cells can be carried out by culturing the cell in a liquid medium contained in the apparatus of the present invention followed by measuring absorbance, turbidity, etc. for the medium without taking out of the apparatus. The measurement may be carried out by a measuring instrument or machine, by visual observation including a comparison with a symbol mark and the like, or by a combination thereof. The visual observation may include a technique employing labels such as characters, lines, pictures and dots wherein a recognition degree is estimated. The label for recognition may be attached to or marked

(painted) on a swab (microorganism-collecting member), an inner wall of the container receiving the medium for culturing cells, or an outer wall thereof. The label for recognition may be suitably selected in view of its shape, color, depth and lightness. For the quantitative measurement, it is preferred to avoid a pigment in a medium for culturing microorganisms. In the present measurement, it is possible to estimate the number of cells present at a starting point.

Incidentally, in FIG. 1 and in FIGS. 3 to 70, illustrations are made for concentrating to the characteristic points of the microorganism-detecting apparatus according to the present invention. It is to be understood that some of the details may be omitted there. Consequently, it is to be understood that the apparatus having the characteristic features of the apparatus according to the present invention shown in this specification, drawings, and the attached claims including those wherein various modifications are made and each of the constituting parts or members is connected each other in more detailed manner are also included in the coverage of the present invention.

MERIT OF THE INVENTION

As mentioned hereinabove, the present invention provides a selective microorganism-detecting apparatus where certain microorganisms (particularly pathogenic ones and, more particularly, those for food poisoning) can be easily, securely and simply detected and/or identified. Said apparatus can be expected to be stored for long period and is in such a shape (arrangement) that it can be immediately used at any time when necessary and that it can be easily and conveniently carried. Thus, the present invention provides a selective microorganism-detecting apparatus which is especially suitable for private and domestic use where toxic microorganisms such as those for food poisoning can be easily, securely and simply

detected/identified and, even after use, is able to be disposed safely, surely and easily.

The microorganism-detecting apparatus of the present invention can be very easily used privately and domestically and, therefore, it is now possible to detect the microorganism and also to establish a preventing measure against food poisoning by a self-active basis being not participated by professionals such as those in public health centers. After incubation of the microorganism, the microorganism-detecting apparatus of the present invention is not made into an open system, for instance, by opening a cover. Even if pathogenic microorganism is contained therein, therefore, it is easy to change the used apparatus to a disposable form and then to discard it. Moreover, there is no need that the apparatus used for incubation is opened and disinfected by adding a disinfectant to the microorganism-containing culture liquid with a tool such as a pipette. Accordingly, troublesome operations can be eliminated and there is no danger. No professional technique, skillfulness and apparatus is necessary to operate the apparatus of the present invention for detecting microorganisms. Further, in the microorganism-detecting apparatus of the present invention, it is unnecessary to prepare a disinfectant solution at all times separately from the container for incubation. Therefore, the apparatus is quite good in terms of portability and easy handling.

EXAMPLES

Described below are examples of the present invention which are provided only for illustrative purposes, and not to limit the scope of the present invention. In light of the present disclosure, it should be understood that numerous embodiments within the scope of the claims will be apparent to those of ordinary skill in the art.

Example 1

(Apparatus for Detection of Staphylococcus aureus and Preparation Thereof)

By referring to FIG. 5, the following materials were used to construct the microorganism-detecting apparatus having the following size:

Container (1): a hollow cylinder having a bottom (inner diameter: 8.5 mm; height: 150 mm) made of polyethylene (thickness: 0.6 mm)

Cover (2): a hollow cylinder having a bottom (inner diameter: 10 mm; length: 53 mm) made of polyethylene (thickness: 0.6 mm)

First bag-shaped member (4): a hollow cylinder having a bottom (inner diameter: 7.5 mm; length: 40 mm) made of glass (thickness: 0.5 mm)

Partition member (5): a disk-shaped body with a diameter of 6 mm made of polyethylene (thickness: 1 mm)

Rod-shaped element (6a): made of polyethylene; diameter: 2 mm; length: 135 mm

Microorganism-collecting end (6b): an end of "swab", made of absorbent cotton (diameter: 5 mm; length: 15 mm)

Disk member (7): filter paper (thickness: 1 mm; diameter: 6 mm)

The antibiotic substances as shown in Table 1 were impregnated in a disk member (7), located between the bottom of the container (1) and the microorganism-collecting end (6b) in such amounts that concentrations of 10 μ g/ml of aztreonam, 8 μ g/ml of polymyxin B and 5 μ g/ml of fluconazole were

obtained upon unification with the medium.

Medium (3): a medium having the composition as shown in Table 1 (except the antibiotics).

Table 1

A) Screening Medium for Detection of Staphylococcus aureus
(Modified Mannitol-Salt Medium)

Myosate Peptone	2.5 g
Polypeptone Peptone	10.0 g
Yeast Extract	2.5 g
D-Mannitol	10.0 g
Lithium Chloride	5.0 g
Sodium Chloride	40.0 g
Phenol Red	25 mg
Distilled Water	1000 ml

pH 7.5

Sterilized by autoclaving at 115 °C for 15 minutes.

Secondary Test: Disk for detection of phosphatase

Disk:	Aztreonam	1 to 15 μ g/ml
	Polymyxin B	1 to 15 μ g/ml
	Fluconazole	1 to 10 μ g/ml

After preparing a detecting apparatus for Staphylococcus aureus having the above composition, it was sterilized by irradiating with gamma-ray at 1 to 30 °C for one minute. The apparatus after the sterilization was stored in a bag made of polyethylene film (thickness: 100 μ m) laminated with (vaporized) aluminum for shielding the light until immediately before use.

Example 2

(Detecting Apparatus for Vibrio parahaemolyticus and Preparation Thereof)

A detecting apparatus for detecting Vibrio parahaemolyticus was prepared, sterilized and stored by the same manner as in Example 1 with an exception that composition for the medium (3) and antibiotics were changed as shown below (Table 2) by referring to FIG. 5. At that time, the antibiotic substances as shown in Table 2 were impregnated in a disk material (7) in such amounts that concentrations of 10 μ g/ml of polymyxin B, 5 μ g/ml of fluconazole and 5 μ g/ml of potassium tellurite were obtained upon unification with the medium.

Table 2

B) Screening Medium for Detection of Vibrio parahaemolyticus
(Modified Salt-Polymyxin Medium)

Polypeptone Peptone	10.0 g
Yeast Extract	5.0 g
Sodium Chloride	20.0 g
Saccharose	15 g
Sodium dodecyl sulfate	1.0 ml
Bromthymol Blue	40.0 mg
Cresol Red	40.0 mg
Distilled Water	1000 ml

pH 7.2

Sterilized by autoclaving at 115 °C for 15 minutes.

Secondary Test: Disk for detection of cytochrome oxidase

Disk:	Polymyxin B	1 to 15 μ g/ml
	Fluconazole	1 to 10 μ g/ml
	Potassium tellurite	1 to 10 μ g/ml

Example 3

(Detecting Apparatus for Salmonella and Preparation Thereof)

A detecting apparatus for detecting Salmonella was prepared, sterilized and stored by the same manner as in Example 1 with an exception that composition for the medium (3) and antibiotics were changed as shown below (Table 3) by referring to FIG. 5. At that time, the antibiotic substances as shown in Table 3 were impregnated in a disk member (7) in such amounts that concentration of 5 μ g/ml of fluconazole was obtained upon unification with the medium.

Table 3

C) Screening Medium for Detection of Salmonella
(Modified Xylose-Lysine Medium)

Yeast Extract	5.0 g
Sodium Chloride	5.0 g
Saccharose	5.0 g
Lactose	5.0 g
Xylose	4.0 g
Lysine	10.0 g
Sodium dodecyl sulfate	1.0 ml
0.2% Bromocresol Purple	12.0 ml
Ammonium Iron Citrate	0.5 g
Sodium Thiosulfate Pentahydrate	0.2 g
Distilled Water	1000 ml
pH 6.8	

Sterilized by autoclaving at 115 °C for 15 minutes.

Disk: Fluconazole 1 to 10 μ g/ml

Example 4

(Confirmation of Selectivity of a Detecting Medium for
Staphylococcus aureus)

Selectivity of the medium for detecting
Staphylococcus aureus prepared in Example 1 was confirmed to be
as follows:

Twenty-two kinds of microorganisms as shown in the
following Table 4 were dispersed in 1.5 ml of the medium for
detecting Staphylococcus aureus prepared in Example 1 to make
the concentration about 10^6 cells/ml at the initiation of
the incubation, cultured in air at 37 °C for 24, 48 or 72 hours
and, out of the color change (if any) of Phenol Red (a pH
indicator contained in the above medium), a judgment was made
whether the growth of the microorganism was noted. When the
color tone of the medium after the incubation turned yellow or
red, the conclusion was done as "positive (+)" (growth of the
microorganism was noted) or "negative (-)" (growth of the
microorganism was not noted), respectively.

TABLE 4

A) Modified Mannitol Salt Base Medium (Gram-Positive Cocci and Gram-Negative Cocci)

Gram Positive/Antibiotics		S. aureus 209P	S. aureus TEN	S. aureus 003	S. agal- actiae	S. pyo- genes	S. epider- midis 2	S. epider- midis 5	S. sapro- phyticus	S. haemo- lyticus	E. faeca- lis 18	E. faeca- lis 7862
Aztreonam + Polymyxin B + Fluconazole	10 µg/ml	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-
	8 µg/ml	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-
	5 µg/ml	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+
Gram Negative/Antibiotics		Salmo- nella	Serratia	Enterobacter	Shigella	Escherichia	Klebsiella	Proteus	Proteus	Proteus	Pseudo- monas 1	Pseudo- monas 2
Aztreonam + Polymyxin B + Fluconazole	10 µg/ml	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	8 µg/ml	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	5 µg/ml	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Positive (+): Color of the medium turned yellow; Negative (-): Color of the medium turned red

THIS SHEET HAS BEEN
REPLACED

This Sheet Has Been Replaced



The result is as shown in Table 4. It is clear from the result of Table 4 that, when the medium for detecting Staphylococcus aureus of the present invention was used, proliferation of Gram-negative microorganism and Eumycetes was effectively inhibited by antibiotic and antifungal substances adsorbed with said medium (3) and said disk (7).

Among the microorganisms tested hereinabove, S. epidermidis did not decompose mannitol contained in the medium (3) and, therefore, there was no change in the color tone of the medium.

According to the experiments conducted by the present inventors, it was found that there were some microorganisms other than Staphylococcus aureus which were "positive" in this medium and that they were coagulase-negative Staphylococcus (CNS), E. faecalis, E. faecium, etc. However, those microorganisms were able to be discriminated from Staphylococcus aureus by a phosphatase test or by a coagulase test (cf. "Directions for Hygienic Tests: Staphylococcus").

In a phosphatase test, incubation was conducted by the above-mentioned medium using a disk for detection of phosphatase (filter paper adsorbed with 4-methylumbelliferyl phosphoric acid) and, after that, fluorescence of 4-methylumbelliferone was detected by irradiating with ultraviolet ray (366 nm) whereby its presence was able to be confirmed.

Example 5

(Confirmation of Selectivity of a Detecting Medium for Vibrio parahaemolyticus)

Selectivity of the medium for detecting Vibrio parahaemolyticus prepared in Example 2 was confirmed to be as follows:

Twenty-two kinds of microorganisms as shown in the following Table 5 were dispersed in 1.5 ml of the medium for detecting Vibrio parahaemolyticus prepared in Example 2 to make the concentration about 10^6 cells/ml at the initiation of the incubation, cultured in air at 37 °C for 24, 48 or 72

hours and, out of the color change (if any) of Bromthymol Blue and Cresol Red (pH indicators contained in the above medium), a judgment was made whether the growth of the microorganism was noted. When the color tone of the medium after the incubation turned yellow or green, the conclusion was done as "positive (+)" (growth of the microorganism was noted) or "negative (-)" (growth of the microorganism was not noted), respectively.



TABLE 5

B) Modified Polymyxin Salt Base Medium (Gram-Positive Cocci and Gram-Negative Cocci)

Gram Positive/Antibiotics		S. aureus 209P	S. aureus TEN	S. aureus 003	S. agal- actiae	S. pyo- genes	S. epider- midis 2	S. epider- midis 5	S. sapro- phyticus	S. haemo- lyticus	E. faeca- lis 18	E. faeca- lis 7862
		Polymyxin B 10 µg/ml + Fluconazole 5 µg/ml + Potassium Tellurite	24hr 48hr 72hr	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -
Gram Negative/Antibiotics		Salmo- nella	Serratia	Enter- bacter	Shigella	Escher- ichia	Klebsi- ella	Proteus 1	Proteus 19	Proteus 20	Pseudo- monas 1	Pseudo- monas 2
		Polymyxin B 10 µg/ml + Fluconazole 5 µg/ml + Potassium Tellurite	24hr 48hr 72hr	- - -	- - -	- - -	- - -	- + +	+ + +	+ + +	- - -	- - -

Positive (+): Color of the medium turned yellow; Negative (-): Color of the medium turned green

THIS SHEET HAS BEEN
REPLACED

The result is as shown in Table 5. It is clear from the result of Table 5 that, when the medium for detecting Vibrio parahaemolyticus of the present invention was used, growth of Gram-positive microorganisms was inhibited by antibiotic substances while that of Gram-negative microorganism and most of Eumycetes were effectively inhibited by antibiotic substances (polymyxin B, fluconazole and potassium tellurite) adsorbed with said disk (7).

According to the experiments conducted by the present inventors, it was found that there were some microorganisms other than Vibrio parahaemolyticus which were "positive" in this medium and that they were V. cholerae, V. vulnificus, Proteus spp., etc. However, those microorganisms were able to be discriminated from Vibrio parahaemolyticus by an oxidase test (a cytochrome oxidase reaction; cf. Kovacs: Nature (London), 178, 703 (1956)).

Example 6

(Confirmation of Selectivity of a Detecting Medium for Salmonella)

Selectivity of the medium for detecting Salmonella prepared in Example 3 was confirmed to be as follows:

Twenty-two kinds of microorganisms as shown in the following Table 6 were dispersed in 1.5 ml of the medium for detecting Salmonella prepared in Example 3 to make the concentration about 10^6 cells/ml at the initiation of the incubation, cultured in air at 37 °C for 24, 48 or 72 hours and, out of the color change (if any) of Bromcresol Purple (a pH indicator contained in the above medium), a judgment was made whether the growth of the microorganism was noted. When the color tone of the medium after the incubation turned "black" or "purple or yellow", the conclusion was done as "positive (+)" (growth of the microorganism was noted) or "negative (-)" (growth of the microorganism was not noted), respectively. Hydrogen sulfide-producing microorganisms such as Salmonella changed the color of the medium to black by the reaction of thiosulfate contained in the medium with ammonium iron citrate.



TABLE 6

C) Modified Xylose-Lysine Base Medium (Gram-Positive Cocci and Gram-Negative Cocci)

Gram Positive/Antibiotics	S. aureus 209P	S. aureus TEN	S. aureus 003	S. agal-actiae	S. pyo-genes	S. epider-midis 2	S. epider-midis 5	S. sapro-phyticus	S. haemo-lyticus	E. faeca-lis 18	E. faeca-lis 7862
	24hr	48hr	72hr	24hr	48hr	72hr	24hr	48hr	72hr	24hr	48hr
Fluconazole 5 µg/ml	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gram Negative/Antibiotics	Salmo-nella	Serratia	Enterobacter	Shigella	Escher-ichia	Klebsi-ella	Proteus	Proteus	Proteus	Pseudo-monas 1	Pseudo-monas 2
	24hr	48hr	72hr	24hr	48hr	72hr	24hr	48hr	72hr	24hr	48hr
Fluconazole 5 µg/ml	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-

Positive (+): Color of the medium turned yellow; Negative (-): Color of the medium turned purple or yellow

Salmonellacolor of the medium:

black

Escherichia coli
Citrobacter spp
Klebsiella spp
Enterobacter spp
Proteus spp

color of the medium:
yellow

Shigella spp
Serratia spp
Pseudomonas spp

color of the medium:
purple

THIS SHEET HAS BEEN REPLACED

The result is as shown in Table 6. It is clear from the result of Table 6 that, when the medium for detecting Salmonella of the present invention was used, growth of Gram-positive microorganisms was inhibited by the antibiotic substances while that of Eumycetes was effectively inhibited by the antibiotic substances (fluconazole) adsorbed with said disk (7).

According to the experiments conducted by the present inventors, it was found that there were some Gram-negative microorganisms changed the color tone of this medium from purple to yellow. Examples of such a color change were as follows:

Microorganism which changed the color to black color:

Salmonella;

Microorganisms which changed the color to yellow:

Escherichia coli, Citrobacter spp., Klebsiella spp.,
Enterobacter spp. and Proteus spp.; and

Microorganisms which changed the color to purple:

Shigella spp., Serratia spp. and Pseudomonas spp.

Example 7

(Use of the Apparatus for Detecting Staphylococcus aureus)

A bag for the apparatus for detecting Staphylococcus aureus prepared in Example 1 was broken to take out said apparatus, then a cover (2) (and a microorganism-collecting part (6)) were taken out from the apparatus (cf. FIG. 2(a)) and the microorganism-collecting end (6b) was rubbed for several times against the surface of a cooking device (such as a chopping board) (cf. FIG. 2(b)).

After that, the above cover (2) was inserted into the apparatus again, the microorganism-collecting end (6b) was kept at a predetermined position in the container, the first bag-shaped member (4) was broken by strongly compressing from outside of the cover (2) using a compressing device ("a breaking device" in a broad clip-like shape) (not shown)



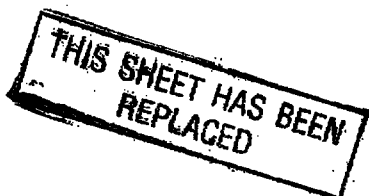
and the medium (3) enclosed in said first bag-shaped member (4) was made to fall down into the container. As a result, the microorganism-collecting end (6b) in the the microorganism-collecting part (6) dipped into the medium (3) (it was possible to prevent the stuffs other than the medium (such as broken pieces of the first bag-shaped member (4)) from falling-down into the container).

Incubation was then conducted at 37 °C for 16 to 24 hours in such a state that the microorganism-collecting end (6b) of the microorganism-collecting part (6) was dipped in a medium (3) whereupon the color tone of the medium (3) changed from red to yellow in some of the cooking device (chopping board). Thus, the presence of Staphylococcus aureus was confirmed. The cooking device where the presence of Staphylococcus aureus was confirmed as such was wiped for several times with a gauze moisturized with a 0.2 to 0.5% aqueous chlorohexidine solution ("Hibiden" (trade name); manufactured by SUMITOMO PHARMACEUTICALS CO. LTD., Japan) followed by washing for ten minutes with tap water. The cooking device (chopping board) which was treated by cleaning with invert soap and washing with water as such was subjected to a test for detecting Staphylococcus aureus as same as above whereupon the color tone of the medium (3) was unchanged but was still in yellow.

The meant that no Staphylococcus aureus was detected. Thus, it was confirmed that Staphylococcus aureus could be effectively removed by the above-mentioned disinfecting treatment.

(Disinfecting/Sterilizing Treatment in the Used Apparatus for Detecting Staphylococcus aureus)

The second bag-shaped member (8) was broken by strongly compressing its cover (2) from outside using a compressing device (a "breaking device" in a broad clip-shaped one) (not shown) whereby a disinfectant/sterilizer (9) (a 5 to 10% aqueous solution of chlorohexidine (trade name: "Hibiden";



manufactured by SUMITOMO PHARMACEUTICALS CO. LTD., Japan)) enclosed in said second bag-shaped member (8) was fallen down into the container. As a result, it is now possible that a disinfecting/sterilizing treatment of inner side of the container (1) including the medium is conducted without detaching the cover (2) from the container (1).

Example 8

(Use of Apparatus for Detecting Vibrio parahaemolyticus and Salmonella)

The same operation as in Example 7 was conducted except that the apparatuses for detecting Vibrio parahaemolyticus and for Salmonella prepared in Examples 2 and 3, respectively, were used to confirm the presence of food poisoning microorganism in cooking devices whereupon, in some cooking devices, presence of Vibrio parahaemolyticus or Salmonella was confirmed.

When those cooking devices were wiped with invert soap and washed with water by the same manner as in Example 7, the presence of Vibrio parahaemolyticus and Salmonella was not noted after said disinfecting treatment. Thus, it was now confirmed that Vibrio parahaemolyticus or Salmonella could be effectively removed by the above-mentioned disinfecting treatment.

(Disinfecting/Sterilizing Treatment of Used Apparatus for Detecting Vibrio parahaemolyticus and Salmonella)

The second bag-shaped member (8) was broken by strongly compressing its cover (2) from outside using a compressing device (a "breaking device" in a broad clip-shaped one) (not shown) whereby a disinfectant/sterilizer (9) (a 5 to 10% aqueous solution of chlorohexidine (trade name: "Hibiden"; manufactured by SUMITOMO PHARMACEUTICALS CO. LTD., Japan)) enclosed in said second bag-shaped member (8) was fallen down into the container. As a result, it is now possible that a

disinfecting/sterilizing treatment of inner side of the container (1) including the medium is conducted without detaching the cover (2) from the container (1).

Example 9

The same operation as in Example 7 was conducted for confirming the presence of food poisoning microorganism in cooking devices except that the detecting apparatuses having basic structures as shown in FIGS. 12 to 16 were used and that the screening media for Staphylococcus aureus, for Vibrio parahaemolyticus and for Salmonella mentioned in Examples 1, 2 and 3, respectively, and the antibiotic substances mentioned therein were jointly used whereupon, in some cooking devices, presence of Staphylococcus aureus, Vibrio parahaemolyticus or Salmonella was confirmed.

When those cooking devices were wiped with invert soap and washed with water by the same manner as in Example 7, the presence of Staphylococcus aureus, Vibrio parahaemolyticus and Salmonella was not noted after said disinfecting treatment. Thus, it was now confirmed that Staphylococcus aureus, Vibrio parahaemolyticus or Salmonella could be effectively removed by the above-mentioned disinfecting treatment.

(Disinfecting/Sterilizing Treatment of the Used Detecting Apparatus)

The second bag-shaped members (48, 64 (or 68), 88, 108) were broken by strongly compressing their covers (42, 62, 82, 102) from outside using a breaking function of the apparatus as shown in FIGS. 12 to 16 (such as 49, 461, 56, 53; 73, 74, 77; 93; 113) whereby a disinfectant/sterilizer (9) (a 5 to 10% aqueous solution of chlorohexidine (trade name: "Hibiden"; manufactured by SUMITOMO PHARMACEUTICALS CO. LTD., Japan)) enclosed in said second bag-shaped members (48, 64 (or 68), 88, 108) was fallen down into the container. As a result, it is now possible that a disinfecting/sterilizing

treatment of inner side of the container (41, 61, 81, 101) including the medium is conducted without detaching the cover (42, 62, 82, 102) from the container (41, 61, 81, 101).

Example 10

By referring to FIGS. 17 to 33, the following materials were used to construct the microorganism-detecting apparatus having the following size:

Thus, the size from the bottom of the container (241) of the microorganism-detecting apparatus shown by FIGS. 17 and 18 to the top of a cap member (249) thereof (i.e. length of the microorganism-detecting apparatus) was about 201 mm.

Container (241): a hollow cylinder having a bottom (inner diameter: about 9.0 mm; height: about 73 mm) made of polypropylene (thickness: about 1.0 mm) (At the outside near the opening, there were screw threads for connection.)

Rod-shaped part (member) (246): made of polypropylene; diameter: about 2.5 mm; length: about 77 mm

Microorganism-collecting end (246b): made of absorbent cotton; an end of "swab" having a maximum diameter of about 5 mm and a length of about 15 mm

Cover (243): The hollow cylindrical body (inner diameter: about 13.0 mm; length: about 96 mm; length of the engaging portion (259): about 10 mm) was made of polypropylene (thickness: about 1.0 mm). Inner side of the connecting part (259) had screw threads.

Partition member (296): a disk with a diameter of about 13 mm made of polypropylene (thickness: about 1 mm). At its center a connecting means for a rod-shaped member of the microorganism-collecting part was placed. There were four perforated holes (through holes) in a shape of a fan. The partition member (296) was engaged with the connecting part (259) of the cover (243).

Cover (247): This (inner diameter: about 10 mm; length: about 57 mm; length of the head (245) (a connecting part with a cap (249)): about 13 mm) was made of polypropylene (thickness: about 1 mm). Inner side of the connecting part had screw

threads. Ridge (or protruding portion) (297) placed on the inner side of the cover (243) (said protruding portion ranges to a protrusion (252)) and the groove (299) located at the outside of the cover (247) were made in such a manner that they were engaged (or geared) each other whereby, when the cover (247) was inserted into the cover (243), they were tightly joined.

Partition member (235): This was made of polypropylene (thickness: about 1 mm) and its diameter was about 9 mm. There were four perforated holes (through holes) in a shape of a fan. The partition member (235) was engaged with an end of the side of the container (241) of the cover (247).

Cap material (249): made of polypropylene (thickness: about 1 mm). Diameter of the top side (561) which was opposite to the container (241) was about 15 mm. A cover (562) for a cap member was engaged therewith where diameter of the screw thread (257) was about 11 to 13 mm and diameter of the bottom (256) at the side of the container (241) was about 9 mm. Said screw threads (257) engaged with the grooves made inside of said connecting part (245). The screwed part formed at the inside of said connecting part (245) had a sufficient width (length of an axial direction of the cover (247)) so that the cap member (249) was able to be rotated and pushed thereinto.

First bag-shaped member (244): an ampule (inner diameter: about 9 mm; length: about 43 mm) made of glass (thickness: about 0.5 mm). It received, for example, the improved media as shown in Example 11 mentioned later and was made into an apparatus for detecting Staphylococcus aureus, Vibrio parahaemolyticus, Salmonella or Escherichia coli accordingly.

Second bag-shaped member (248): An ampule made of glass (thickness; about 0.5 mm) having inner diameter of about 9 mm and length of about 36 mm and receiving a disinfectant/ bactericide as shown in Example 7 therein.

After manufacturing the microorganism-detecting apparatus having the above-mentioned constitution, it was

sterilized by a sterilizer using ethylene oxide.

The sterilization was conducted, for example, at the temperature of 30 to 50 °C in a gas consisting of about 20% of ethylene oxide and about 80% of carbon dioxide gas under the pressure of about 0.3 kg/m² for about five hours.

The apparatus after the sterilization was placed in a bag made of polyethylene film (thickness: about 100 μ m) evaporated with aluminum for shielding the light and stored until immediate before use. A medium of the following Example 11 was used by placing into the above-mentioned ampule (the first bag-shaped material (244)) followed by sealing.

Similarly were prepared the microorganism-detecting apparatuses by referring to FIGS. 34 to 51.

Example 11

(Preparation of a Microorganism-Detecting Apparatus Using Improved Medium)

(i) For a purpose of taking out from an ampule, a liquid medium is suitable and, from such a viewpoint, an improvement in media was conducted. Further, with an object of improving the specificity to the microorganism and of improving the operability of the microorganism-detecting apparatus, the composition for the medium was investigated whereby there will be no need of using a disk member (7) holding the antibiotics and an improvement was conducted for giving a selectivity to the medium. At the same time, investigation was made on pH indicators as well for such an improvement. As a result, the media having the following compositions were found to be appropriate:

(a) Improved Medium for Salmonella

(1) Composition

Base Medium:

Tryptone (DIFCO)	5 g
Yeast extract (DIFCO)	3 g
L-(+)-Lysine monohydrochloride (WAKO; special grade)	10 g
Glucose (anhydrous) (WAKO; special grade)	1 g
Sodium chloride (WAKO; special grade)	8 g
Monopotassium dihydrogen phosphate (WAKO; sp gr)	1.6 g
Sodium thiosulfate pentahydrate (WAKO; special gr)	0.2 g
Ammonium iron(III) citrate (brown) (WAKO; extra pure gr)	0.3 g
Magnesium chloride hexahydrate (WAKO; special gr)	20.3 g
Bromcresol Purple (WAKO; special grade)	0.02 g
0.4% Malachite Green solution	30 ml
(Malachite Green oxalate (WAKO; special grade)	(0.4 g)

was added to a small amount of pure alcohol, the mixture was well ground and pure water was added thereto to make the total volume 100 ml)

(2) Method of Preparation

Each of the components in the above basic medium was weighed and 1000 ml of pure water was added thereto followed by well shaking and the resulting homogeneous floating liquid was mixed with 30 ml of a 0.4% Malachite Green solution followed by dissolving with heating (at 100 °C for 20 minutes). The medium was adjusted to pH 5.3 to 5.7. After cooling, the medium was filtered through a filter of 0.2 μ .

(b) Improved Medium for *Vibrio parahaemolyticus*

(1) Composition

Base Medium:

Salt-polymyxin broth (NISSUI SEIYAKU)	33 g
D-(-)-Mannitol (WAKO; special grade)	20 g
Sodium citrate dihydrate (WAKO; special grade)	8 g
Sodium thiosulfate pentahydrate (WAKO; special gr)	0.2 g
Bromocresol Purple (WAKO; special grade)	0.02 g

(2) Method of Preparation

Each of the components for the above basic medium was weighed and 1000 ml of pure water was added thereto followed by well shaking to prepare a homogeneous floating liquid. The medium was adjusted to pH 7.0 to 7.4 and sterilized at 121 °C for 15 minutes. Immediately after sterilization, it was cooled rapidly.

(c) Improved Medium for *Escherichia coli* Group

(1) Composition

Base Medium:

Lauryl tryptose broth (DIFCO)	35.6 g
Lactose monohydrate (WAKO; special grade)	5 g
Bromthymol Blue (WAKO; special grade)	0.04 g

(2) Method of Preparation

Each of the components for the above basic medium was weighed and 1000 ml of pure water was added thereto followed by well shaking to prepare a homogeneous floating liquid. The medium was adjusted to pH 6.75 to 7.25 and sterilized at 121 °C for 15 minutes. Immediately after sterilization, it was cooled rapidly.

(d) Improved Medium for Staphylococci

(1) Composition

Basic Medium:

Tryptone (DIFCO)	10 g
Yeast extract (DIFCO)	5 g
D-(-)-Mannitol (WAKO; special grade)	10 g
Dipotassium monohydrogen phosphate (WAKO; sp gr)	5 g
Lithium chloride monohydrate (WAKO; special grade)	5.5 g
Glycine (WAKO; special grade)	16.5 g
Sodium pyruvate (WAKO; special grade)	12 g
Phenol Red (WAKO; special grade)	0.025 g
1% Aqueous solution of potassium tellurite	15 ml
Potassium tellurite (WAKO)	1 g

(Pure water (100 ml) was added to 1 g of potassium tellurite and the mixture was dissolved)

(2) Method of Preparation

Each of the components in the above basic medium was weighed and 1000 ml of pure water was added thereto followed by well shaking to prepare a homogeneous floating liquid. The medium was adjusted to pH 7.25 to 7.75 and sterilized at 121 °C for 15 minutes. When it was cooled down to 50 °C or lower, 15 ml of 1% aqueous solution of potassium tellurite was added. After well mixing, the mixture was sterilized by filtering through a filter of 0.2 μ .

(ii) Measurement of Microorganism-Detecting Sensitivity and Specificity for Microorganism of Each Medium

Control strains, i.e. Salmonella (amount: 10^9 cells), Vibrio parahaemolyticus (amount: 10^9), Escherichia coli group (amount: 10^9) and Staphylococcus (amount: 10^8), were dispersed in 1.5 ml of each medium to make the initial amount as shown in Tables 8 to 11 followed by incubating at 37 °C for 24 hours in air.

Growth of each microorganism was judged by means of changes in color after the incubation. Incidentally, all of

the above-mentioned control stains were the clinically separated strains and were identified by API 20 E (trade name; bioMerieux-Vitek Japan, Ltd., Japan) for Escherichia coli, Salmonella and Vibrio and by API Staph (trade name; bioMerieux-Vitek Japan, Ltd., Japan) for Staphylococcus.

In API 20 E (trade name; bioMerieux-Vitek Japan, Ltd., Japan), the following is exemplified in a positive rate table under the incubating conditions of 35 to 37 °C for 24 or 48 hours:

They are Escherichia coli 1 and Escherichia coli 2 for Escherichia coli; Salmonella arizonae, Salmonella choleraesuis, Salmonella paratyphi A, Salmonella spp. and Salmonella typhi for Salmonella; and Vibrio alginolyticus, Vibrio cholerae, Vibrio hollisae, Vibrio metschnikovii, Vibrio mimicus, Vibrio parahaemolyticus and Vibrio vulnificus for Vibrio.

In API Staph (trade name; bioMerieux-Vitek Japan, Japan), the following is exemplified in a positive rate table under incubating condition of 35 to 37 °C for 18 to 24 hours for Staphylococcus:

They are Staphylococcus aureus, Staphylococcus auriculans, Staphylococcus capitis, Staphylococcus caprae, Staphylococcus camosus, Staphylococcus chromogenes, Staphylococcus cohnii, Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus haemolyticus, Staphylococcus hominis, Staphylococcus hyicus, Staphylococcus lentus, Staphylococcus lugdunensis, Staphylococcus saprophyticus, Staphylococcus schleiferi, Staphylococcus sciuri, Staphylococcus simulans, Staphylococcus warneri and Staphylococcus xylosus.

Table 7

(unit: CFU/ml)

Microorganism- Detecting Apparatus	Sensitivity	
	Before Improvement	After Improvement
Kit for <u>Staphylococcus</u>	3.0×10^3	1.9×10^2
Kit for <u>Salmonella</u>	3.0×10^4	1.4×10^2
Kit for <u>Vibrio</u> <u>parahaemolyticus</u>	3.0×10^5	3.1×10^2
Kit for <u>Escherichia</u> <u>coli</u> group	3.0×10^4	1.5×10^2

It is understood from Table 7 that, in the improved media, improvement in sensitivity was achieved in all microorganisms. A significant improvement was achieved especially in Vibrio parahaemolyticus. The following Tables 8 to 11 show the result of judgment of each of the media for the improved ones having the above-mentioned compositions as compared with the media before the improvement. In the tables, "Food Stamp" is a conventional name for a device for detecting microorganisms, for example, available from EIKEN KIZAI CO., LTD., Japan (trade name: "PETAN CHECK"), DENKA SEIKEN K.K., Japan (trade name: "DD CHECKER "SEIKEN"") and NISSUI PHARMACEUTICAL CO., LTD (trade name: "SHOKUZAI CHECK "NISSUI""), and "San Coli" is a trade name for "Coli forms Detection Paper" available from SAN KAGAKU K.K., Japan.

TABLE 8

Kit for Staphylococcus

Dilution	Rate : 10 ^x		-3	-4	-5	-6	-7	-8
	Amount of Microorganism		10 ⁵	10 ⁴	10 ³	10 ²	10 ¹	10 ⁰
Media before Improvement	Change in Color		(+)	(+)	(+)	(±)	(-)	(-)
	Colony Numbers		Numerous	Numerous	Numerous	Negative	Negative	Negative
Media after Improvement	Change in Color		(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)
	Colony Numbers		Numerous	Numerous	Numerous	Numerous	Negative	Negative
Food Stamp			Numerous	Numerous	Numerous	Negative	Negative	Negative
"San-Coli"			(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

TABLE 9

Kit for Salmonella

Dilution	Rate: 10^x	-3	-4	-5	-6	-7	-8
	Amount of Microorganism	10^6	10^5	10^4	10^3	10^2	10^1
Media before Improvement	Change in Color	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)
	Colony Numbers	Numerous	Numerous	Numerous	Negative	Negative	Negative
Media after Improvement	Change in Color	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)
	Colony Numbers	Numerous	Numerous	Numerous	Numerous	Numerous	Negative
Food Stamp		Numerous	Numerous	Numerous	Negative	Negative	Negative
"San-Coli"		(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

TABLE 10

Kit for *Vibrio parahaemolyticus*

Dilution	Rate: 10^x	-3	-4	-5	-6	-7	-8
	Amount of Microorganism	10^6	10^5	10^4	10^3	10^2	10^1
Media before Improvement	Change in Color	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
	Colony Numbers	Numerous	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative
Media after Improvement	Change in Color	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)
	Colony Numbers	Numerous	Numerous	Numerous	Numerous	Numerous	Negative
Food Stamp		Numerous	Numerous	Numerous	Negative	Negative	Negative
"San-Coli"		(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

TABLE 11

Kit for Escherichia coli group

Dilution	Rate: 10 ^x	-3	-4	-5	-6	-7	-8
	Amount of Microorganism	10 ⁶	10 ⁵	10 ⁴	10 ³	10 ²	10 ¹
Media before	Change in Color	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)
Improvement	Colony Numbers	Numerous	Numerous	Numerous	Negative	Negative	Negative
Media after	Change in Color	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)
Improvement	Colony Numbers	Numerous	Numerous	Numerous	Numerous	Few	Negative
Food Stamp		Numerous	Numerous	Numerous	Negative	Negative	Negative
"San-Coli"		(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

Staphylococcus aureus (MRSA), Staphylococcus aureus (MSSA), Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus saprophyticus, Staphylococcus haemolyticus, Enterococcus sp., Bacillus sp., Salmonella typhimurium, Salmonella typhi, Proteus vulgaris, Proteus mirabilis, Citrobacter freundii, Citrobacter diversus, Klebsiella pneumoniae, Klebsiella oxytoca, Enterobacter aerogenes, Enterobacter cloacae, Serratia marcescens, Hafnia alvei, Morganella morganii, Vibrio parahaemolyticus, Vibrio fluvialis, Vibrio vulnificus, Aeromonas sp., Plesiomonas shigelloides, Escherichia coli (O-157 EHRC), Escherichia coli (O-55 EPEC), Escherichia coli (O-124 EIEC), Escherichia coli (O-25 ETRC), Pseudomonas sp., Acinetobacter sp., Flavobacterium sp., etc. were used and their detection was conducted whereupon good results were obtained. Relation between the microorganisms showing positive result and the changes in color of the medium is given in Table 12. It was noted that coloration was good and the resulting color had an excellent discriminating ability.



TABLE 12

Microorganism showing Positive Reaction and Color Change

Microorganism-Detecting Apparatus	Microorganisms showing Positive Reactions	Before Improvement		After Improvement	
		❖Negative	Positive	❖Negative	Positive
Kit for Detecting Staphylococcus	Staphylococcus aureus	pink	(weak) orange	red	yellow
			(strong) yellow		
	Others	pink	yellow	red	
Kit for Detecting Salmonella	Salmonella	purple	dark purple	blue	purple
	genera Citrobacter and Enterobacter	purple	yellow	blue	purple
	genera Klebsiella, Proteus and E. coli group	purple	yellow	blue	
Kit for Vibrio parahaemolyticus	Vibrio parahaemolyticus	bluish purple	yellowish green	purple	yellow
	genera Enterococcus and Serratia	bluish purple	yellow	purple	yellow
	Others	bluish purple	yellow	purple	
Kit for Escherichia coli Group	Escherichia coli group	purple	yellow	green	yellow
	Others	purple	yellow or white (transparent)	green	

Others: refer to the above-mentioned test microorganisms ❖Negative: the same color as before the test

THIS SHEET HAS BEEN
REPLACED

An improved medium for Escherichia coli group mentioned in the above Example 11(i)(c) where Bromcresol Purple was substituted for Bromthymol Blue gave a good result in detecting the microorganisms in food and food materials. For example, a good result was obtained in the detection of a microorganism in milk products by the use of a microorganism-detecting apparatus (containing said improved medium for Escherichia coli) constituted according to Example 10 (particularly by referring to FIGS. 34 to 51). The coloration was good and the resulting color had an excellent discriminating ability.

Example 12

By utilizing a microorganism-detecting apparatus as shown in FIG. 35 wherein a medium suitable for measuring numbers of viable cells is used, target microorganisms are cultured. After incubation for a determined period, the cultured medium is measured for turbidity. In the experimentation, it is checked whether or not the number of viable microorganism cells prior to the incubation can be estimated from the resultant turbidity data.

(1) To a medium for measuring the number of viable cells was added a solution of microorganisms with a predetermined concentration (10^8 to 10^1 cells) and the medium was incubated at 37 °C for a certain time (3, 5, and 6 hours, respectively).

Medium for measuring the number of viable cells

Composition per 1 liter of medium

Meat extract	3.0 g
Casein peptone	15.0 g
Yeast extract	5.0 g
Glucose	1.0 g

(2) The cultured medium was diluted with a physiological saline solution to a 2-fold dilution. Then, said 2-fold diluted medium was applied to a turbidimeter (such as a device

designed to measure the bacterial density in a liquid medium), McFarland turbidimeter (available from bioMerieux-Vitek Japan, Ltd., Japan; ATB1550) and measured for

turbidity. The results are shown in FIGS. 71 and 72.

FIG. 71 is the relation between the number of viable Staphylococcus aureus cells and the measured turbidity data.

FIG. 72 is the relation between the number of viable Escherichia coli cells and the measured turbidity data.

In this experimentation, the number of the viable cells ranges from 10^3 to 10^8 cells after incubation for 5 to 6 hours and it is confirmed that there is a proportional relationship between the number of viable cells and turbidity data. Thus, it is understood that it is possible to estimate the number of viable microorganism cells prior to incubation by utilizing the microorganism-detecting apparatus according to the present invention.

Further, when a suitable incubation time and turbidity is selected, it would enable us to estimate the the number of viable microorganism cells prior to incubation. A concentration of medium for measuring the number of viable cells may be suitably selected in order to give a suitable turbidity value.

While the best mode for carrying out the invention has been described in detail, those familiar with the art to which this invention relates will recognize various alternative designs and embodiments for practicing the invention as defined by the following claims.

WHAT IS CLAIMED IS:

1. An apparatus for detecting microorganism, characterized in that, said apparatus comprises at least:

(a) a container for holding a medium which is used for culturing the microorganism to be detected during the period of the incubation of said microorganism;

(b) a microorganism-collecting part for taking microorganisms to be detected and transferring the collected microorganisms into the container;

~~(c) a means~~ for allowing us to holding the medium for culturing the microorganism to be detected, in a noncontact manner with the microorganism-collecting part (b), until the incubating stage of the microorganism; and

~~(d) a means~~ for disinfecting the medium after incubation.

2. The apparatus for detecting microorganism according to claim 1 wherein the means (d) (means for disinfecting the medium after incubation) includes means for allowing a disinfectant to be held, without contact with the microorganism, until the completion of the incubation for the microorganism to be detected.

3. The apparatus for detecting microorganism according to claim 1 or 2 wherein the medium and the disinfectant are made in such a manner that they can unitedly contact each other, by the action of a force applied from outside, after incubation of the microorganism.

4. The apparatus for detecting microorganism according to any of claims 1 to 3 wherein the microorganism-collecting part (b) and the medium used for culturing the microorganism to be detected are made in such a manner that they can unitedly contact each other, by the action of a force applied from outside, during the incubation of the microorganism.

5. The apparatus for detecting microorganism according to any of claims 1 to 4 wherein said apparatus contains:

(a) a hollow container having an opening at one of the



ends;

(b) a microorganism-collecting part located in said hollow container;

(c) a medium for culturing the microorganism, said medium being located so as to contact with said microorganism-collecting part during the incubation of the microorganism; and

(d) a disinfectant being located so as to contact with the medium for culturing the microorganism after the incubation of the microorganism.

6. The apparatus for detecting microorganism according to any of claims 1 to 5 wherein an antibiotic substance is added to said medium.

7. The apparatus for detecting microorganism according to any of claims 1 to 6 wherein an antibiotic substance is contained, at least a part of said antibiotic substance coming unitedly into contact with the medium, by the action of an external force, during the incubation of the microorganism, and at least said antibiotic substance and the medium being located in the storage container in a noncontact manner.

8. The apparatus for detecting microorganism according to any of claims 1 to 7 wherein microorganisms are detected through incubating the microorganism in a medium and observing the changes in the medium, characterized in that said apparatus comprises

- (i) a microorganism-collecting part,
- (ii) an antibiotic substance,
- (iii) a medium and
- (iv) a disinfectant,

wherein at least a part of (i) the microorganism-collecting part, (ii) the antibiotic substance and (iii) the medium can unitedly contact each other, by the action of the force from outside, during the incubation of the microorganism, at least the above-mentioned antibiotic substance (ii) and the above-mentioned medium (iii) being located in a storage container in a noncontact manner, and

wherein, after incubation of the microorganism, at least



the incubated microorganism and the disinfectant (iv) can unitedly contact each other by the action of the force from outside, at least the above-mentioned disinfectant (iv) and the above-mentioned medium (iii) being located in the storage container in a noncontact manner.

9. The apparatus for detecting microorganism according to any of claims 1 to 5 and 7 to 8 wherein said antibiotic substance is

- (1) located in the above-mentioned container,
- (2) given to the above mentioned microorganism-collecting part or
- (3) coated on the inner wall of the above-mentioned container.

10. The apparatus for detecting microorganism according to any of claims 1 to 5 and 7 to 9 wherein said antibiotic substance is given to other materials located in said hollow container.

11. The apparatus for detecting microorganism according to any of claims 1 to 5 and 7 to 9 wherein said microorganism-collecting part has a multiple structure containing at least an inside material and an outside material and said antibiotic substance is located in said inside material.

12. The apparatus for detecting microorganism according to any of claims 1 to 11 wherein said medium contains a substance capable of changing its color according to the change caused by growth of the microorganism.

13. The apparatus for detecting microorganism according to any of claims 1 to 12 wherein said container has a cover for tight closing and said medium is located in said cover in such a manner that it is enclosed in a bag-shaped member.

14. The apparatus for detecting microorganism according to claim 13 wherein a perforated material is located between said bag-shaped member and said hollow container.

15. The apparatus for detecting microorganism according to claim 14 wherein a guide member which can promote



a falling-down of the medium along said microorganism-collecting part is located under said perforated material.

16. The apparatus for detecting microorganism according to any of claims 1 to 15 wherein said apparatus has an incubation selectivity to at least one microorganism selected from the group consisting of enteropathogenic Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Vibrio parahaemolyticus and Salmonella.

17. The apparatus for detecting microorganism according to any of claims 1 to 16 wherein said apparatus has a structure for allowing us to disinfect the medium used for the incubation under a tightly closed state.

18. The apparatus for detecting microorganism according to any of claims 1 to 17 wherein said apparatus has a structure for allowing us to conduct at least

- (i) addition of a medium into a container,
- (ii) incubation,
- (iii) visual detection of the microorganism cells, and
- (iv) disinfecting treatment of the incubated medium

under a tightly closed state after collecting treatment of the microorganism by the microorganism-collecting part.

19. An apparatus for detecting microorganism, characterized in that a cover is composed of:

- (a) a first cover-constituting member which constitutes a first section for receiving a first bag-shaped member,
- (b) a second cover-constituting member which constitutes a second section for receiving a second bag-shaped member, and
- (c) a cap member being located at one end of said second cover-constituting member and at the opposite side of the fitting side (of said second cover-constituting member) for said first cover-constituting member and rotatably screwed into said second cover-constituting member;

wherein, at or near each end of the first and second cover-constituting members, each end being located at the side of a container having a space for culturing the microorganism by receiving a medium, either a partition is formed or a member for the partition is disposed for keeping each of said



bag-shaped members;

said first cover-constituting member being slidably engaged with one end of said second cover-constituting member wherein said first bag-shaped member can be broken to release the medium contained therein by sliding said second cover-constituting member to the side of said first cover-constituting member by a force from outside (external force);

wherein said second bag-shaped member can be broken to release a disinfectant contained therein by rotating said cap member by a force from outside (external force), and

wherein one or more through holes are formed in said partition or said partition member in a manner that the medium and the disinfectant can be communicated with said container.

20. The apparatus for detecting microorganism according to any of claims 1 to 19, comprising a medium selected from the group consisting of:

(a) a medium for Salmonella having a composition substantially containing an appropriate amount, such as 3 to 7 g, of tryptone, an appropriate amount, such as 1 to 6 g, of yeast extract, an appropriate amount, such as 5 to 15 g, of lysine, an appropriate amount, such as 0.5 to 2 g, of glucose, an appropriate amount, such as 7 to 9 g, of sodium chloride, an appropriate amount, such as 1.0 to 2.0 g, of monopotassium dihydrogen phosphate, an appropriate amount, such as 0.1 to 0.3 g, of sodium thiosulfate, an appropriate amount, such as 0.2 to 0.4 g, of ammonium iron citrate, an appropriate amount, such as 15 to 25 g, of magnesium chloride, an appropriate amount, such as 27 to 33 ml, of 0.4% Malachite Green solution and an appropriate amount, such as 0.01 to 0.03 g, of Bromcresol Purple per 1,000 ml of the medium (pH of the medium being about 5.3 to 5.7);

(b) a medium for Vibrio parahaemolyticus having a composition substantially containing an appropriate amount, such as 25 to 40 g, of a salt polymyxin broth (where the salt polymyxin broth contains an appropriate amount of yeast extract, an appropriate amount of peptone, an appropriate amount of sodium chloride and an appropriate amount polymyxin



B), an appropriate amount, such as 15 to 25 g, of mannitol, an appropriate amount, such as 5 to 10 g, of sodium citrate, an appropriate amount, such as 0.1 to 0.3 g, of sodium thiosulfate and an appropriate amount, such as 0.01 to 0.03 g, of Bromocresol Purple per 1,000 ml of the medium (pH of the medium being about 7.0 to 7.4);

(c) a medium for Escherichia coli group having a composition substantially containing an appropriate amount, such as 26 to 43 g, of lauryl sulfate broth (the lauryl sulfate broth contains an appropriate amount of tryptose, an appropriate amount of lactose, an appropriate amount of monopotassium dihydrogen phosphate, an appropriate amount of dipotassium monohydrogen phosphate, an appropriate amount of sodium chloride and an appropriate amount of sodium lauryl sulfate), an appropriate amount, such as 3 to 8 g, of lactose and an appropriate amount, such as 0.03 to 0.05 g, of Bromthymol Blue or Bromocresol Purple per 1,000 ml of the medium (pH of the medium being about 6.75 to 7.25); and

(d) a medium for Staphylococcus having a composition substantially containing an appropriate amount, such as 5 to 15 g, of tryptone, an appropriate amount, such as 2 to 8 g, of yeast extract, an appropriate amount, such as 5 to 15 g, of mannitol, an appropriate amount, such as 2 to 8 g, of dipotassium monohydrogen phosphate, an appropriate amount, such as 5 to 6 g, of lithium chloride, an appropriate amount, such as 12 to 20 g, of glycine, an appropriate amount, such as 10 to 14 g, of sodium pyruvate, an appropriate amount, such as 12 to 18 ml, of 1% aqueous solution of potassium tellurite and an appropriate amount, such as 0.02 to 0.03 g, of Phenol Red per 1,000 ml of the medium (pH of the medium being about 7.25 to 7.75).

21. The apparatus for detecting microorganism according to any of claims 1 to 5 wherein microorganisms are detected through incubating the microorganism in a medium and observing the changes in the medium, characterized in that said apparatus comprises

(i) a microorganism-collecting part,



- (ii) a medium and
- (iii) a disinfectant,

wherein at least a part of (i) the microorganism-collecting part and (ii) the medium can unitedly contact each other, by the action of the force from outside, during the incubation of the microorganism, the above-mentioned microorganism-collecting part (i) and the above-mentioned medium (ii) being at least located in a storage container in a noncontact manner, and

wherein, after incubation of the microorganism, at least the incubated microorganism and the disinfectant (iii) can unitedly contact each other by the action of the force from outside, at least the above-mentioned disinfectant (iii) and the above-mentioned medium (ii) being located in the storage container in a noncontact manner.

22. The apparatus for detecting microorganism according to any of claims 1 to 21 wherein said container comprises a cover for closing an opening, said cover accommodating a bag-shaped member which encloses said medium.

23. The apparatus for detecting microorganism according to any of claims 1 to 22 wherein said container comprises a cover member for closing an opening, said cover accommodating a bag-shaped member which encloses said disinfectant.

24. The apparatus for detecting microorganism according to any of claims 1 to 23 wherein said cover has a structure for allowing it to hold and carry at least

- (i) a first bag-shaped member containing a medium, and
- (ii) a second bag-shaped member containing a disinfectant independently each other.

25. The apparatus for detecting microorganism according to any of claims 1 to 24 wherein said cover comprises at least

- (i) a first cover-constituting member accommodating the first bag-shaped member, and
- (ii) a second cover-constituting member accommodating the second bag-shaped member.



26. The apparatus for detecting microorganism according to any of claims 1 to 25, comprising

a means for protection and engagement, being disposed in said first and second cover-constituting members so as not break the first bag-shaped member by moving the second cover-constituting member prior to use.

27. The apparatus for detecting microorganism according to any of claims 1 to 26, wherein said second cover-constituting member is equipped with a cap member and a means for protection and engagement is disposed in said second cover-constituting member and said cap member so as not to break the second bag-shaped member by moving the cap member prior to use.

28. The apparatus for detecting microorganism according to claim 26 or 27, wherein said means for protection and engagement is a combination of a stopper and a guide.

29. A method for quantitatively measuring the number of viable microorganism cells in a sample or specimen through using the apparatus for detecting microorganism according to any of claims 1 to 19 and 21 to 28.



* C L M S *

ABSTRACT OF THE DISCLOSURE

An object of the present invention is to offer a microorganism-detecting apparatus where the microorganism causing a food poisoning can be detected/identified by a simple operation and also a disposal treatment can be conducted safely and surely. Means for achieving the object is as follows: Thus, the apparatus for detecting microorganism as mentioned below is portable and enables us to selectively incubate and detect the microorganism (particularly those which are a cause of food poisoning) without skillfulness and the detecting apparatus containing pathogenic microorganism (such as that which is a cause of food poisoning) can be safely and surely disposed. Said apparatus is characterized in having at least (a) a container (1) for holding a medium which is used for culturing the microorganism to be detected during the period of the incubation of said microorganism; (b) a microorganism-collecting part (6); (c) a means (3) for making possible a process of receiving, in a noncontact manner with the microorganism-collecting part, the medium used for culturing the microorganism to be detected until the incubating stage of the microorganism; and (d) a means (9) for disinfecting the medium after incubation.

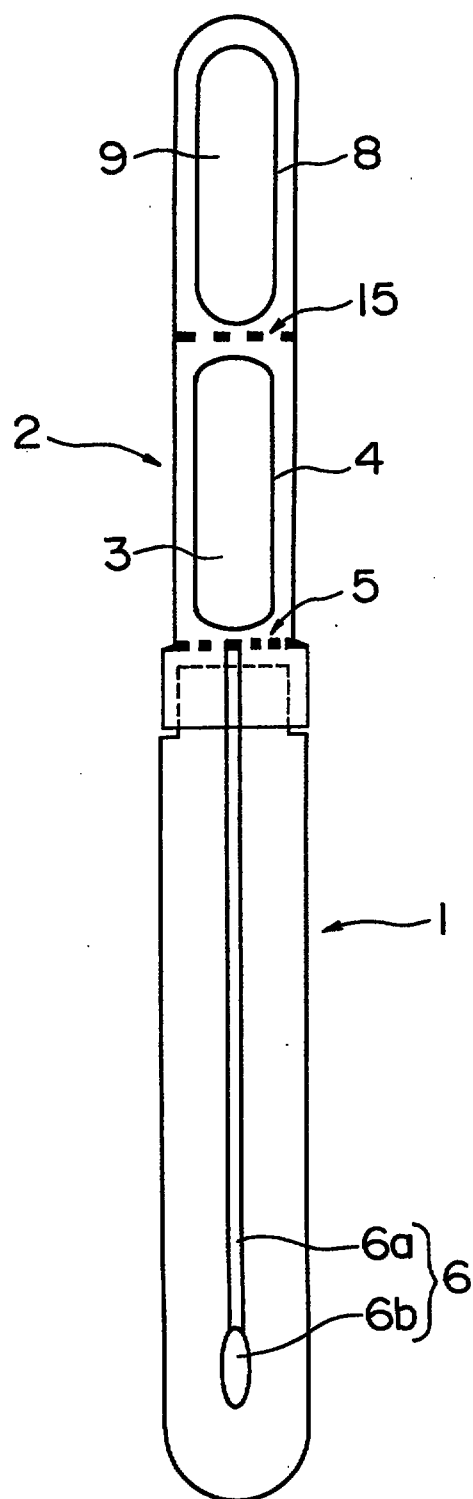


FIG. 1

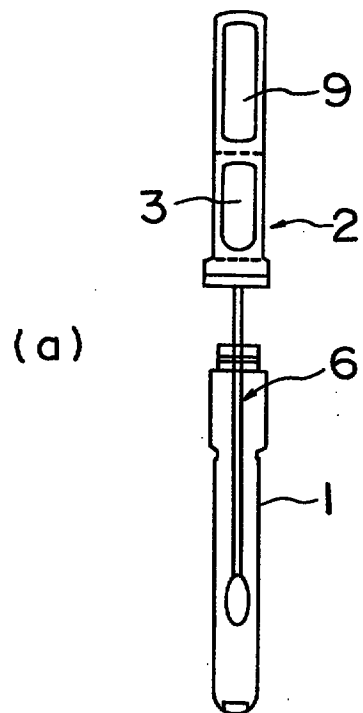
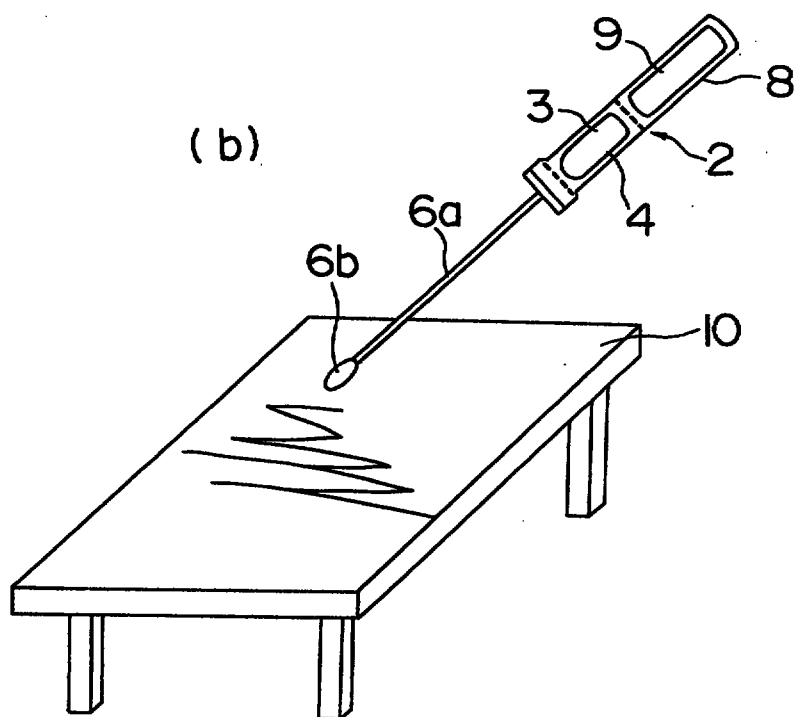


FIG. 2



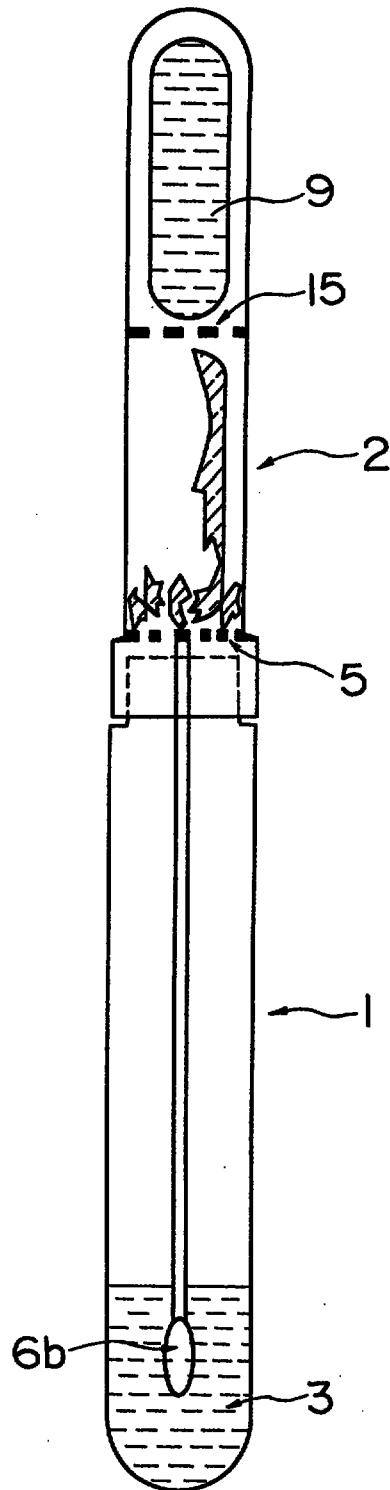


FIG. 3

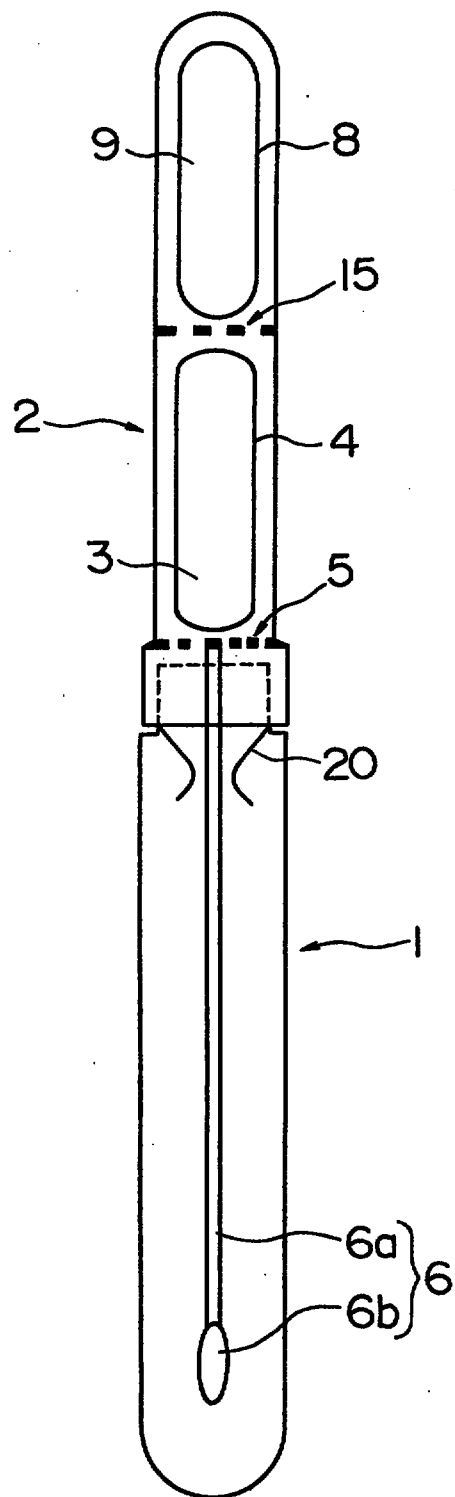


FIG. 4

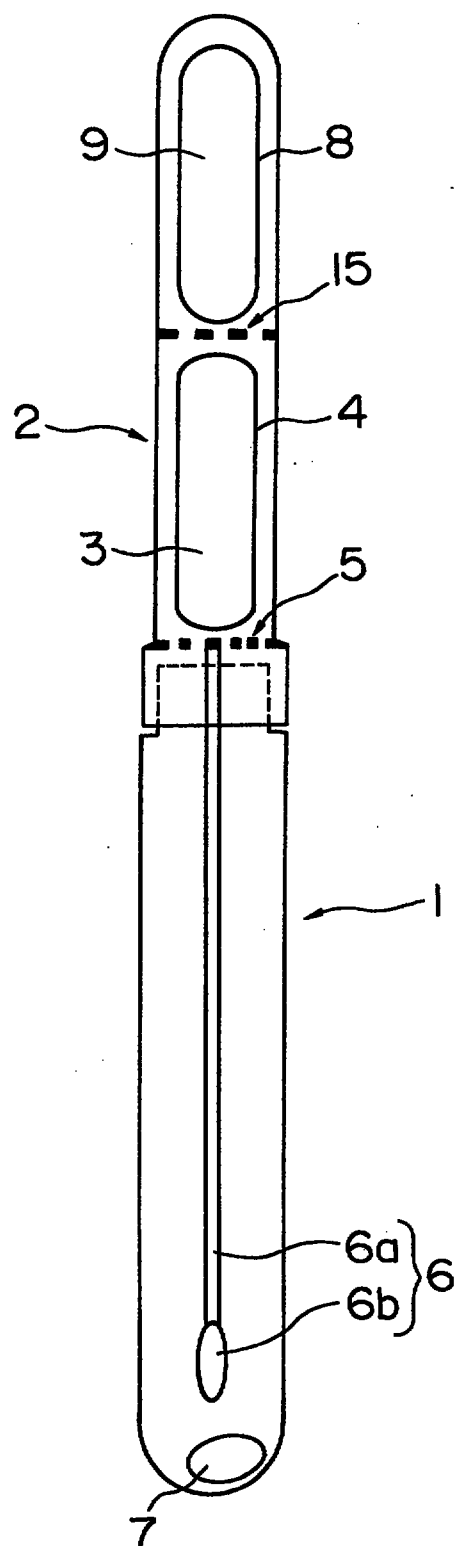


FIG. 5

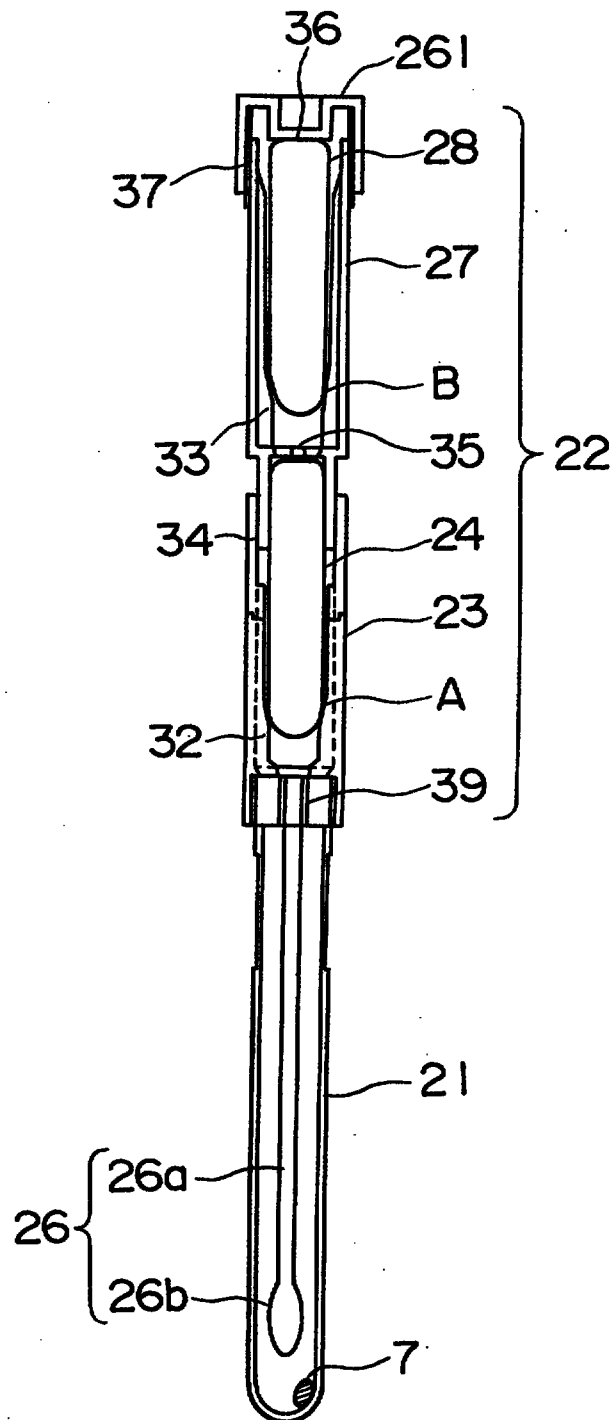


FIG. 6

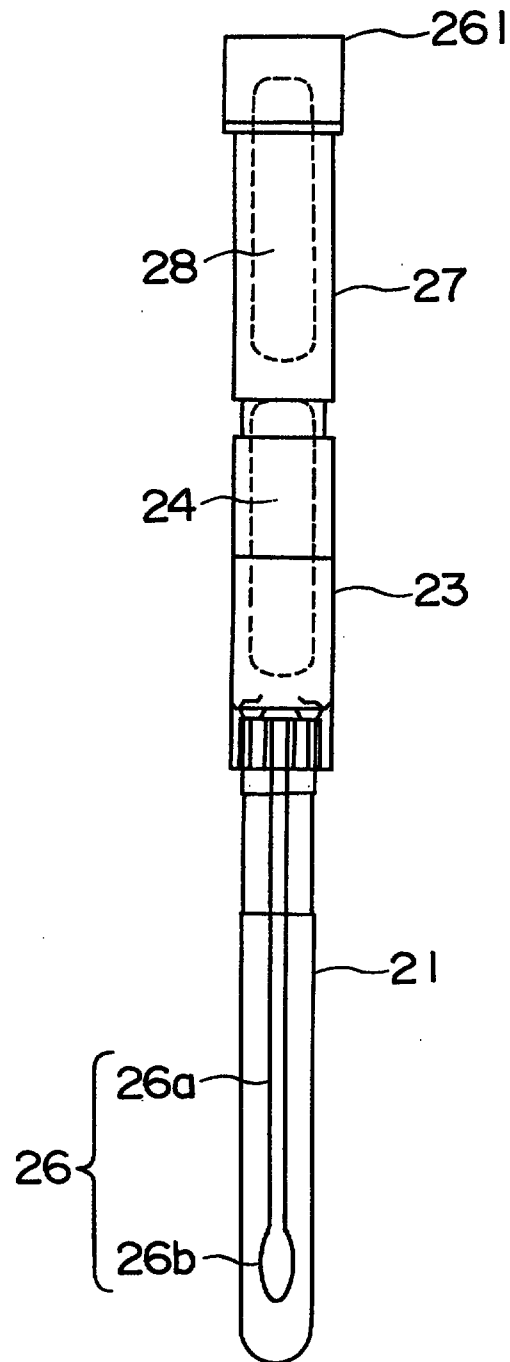


FIG. 7

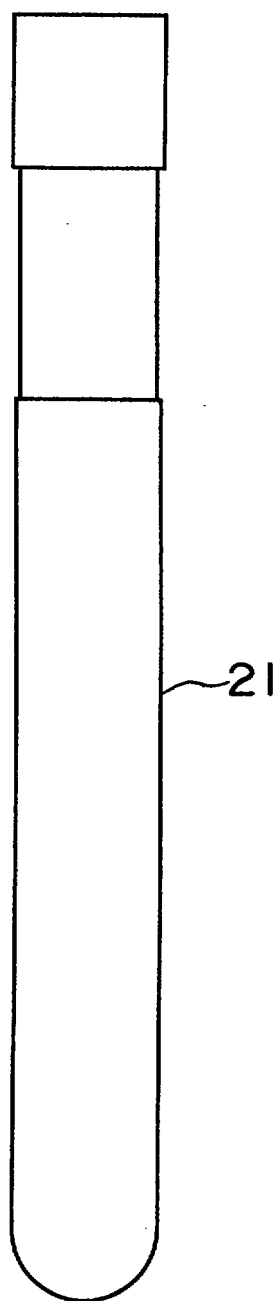


FIG. 8

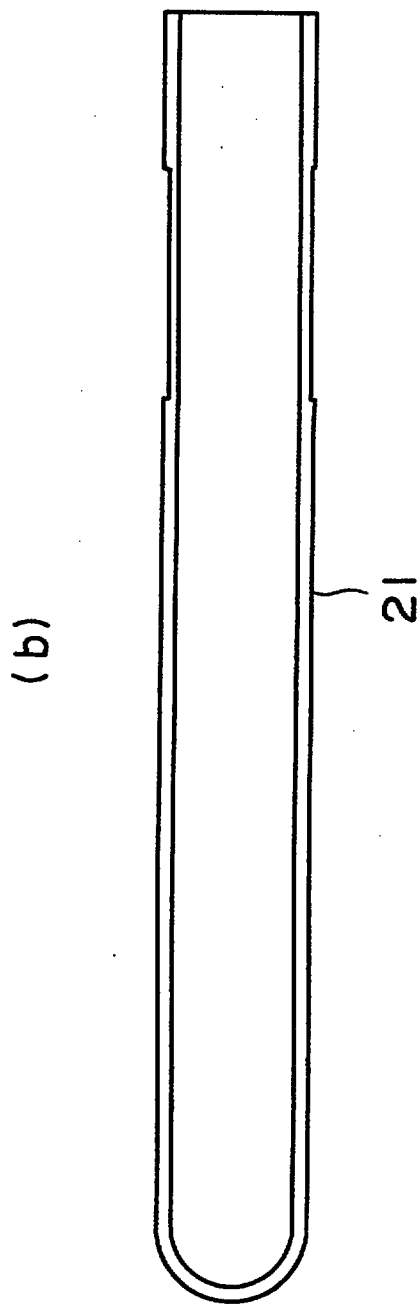
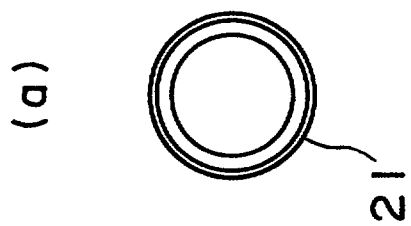
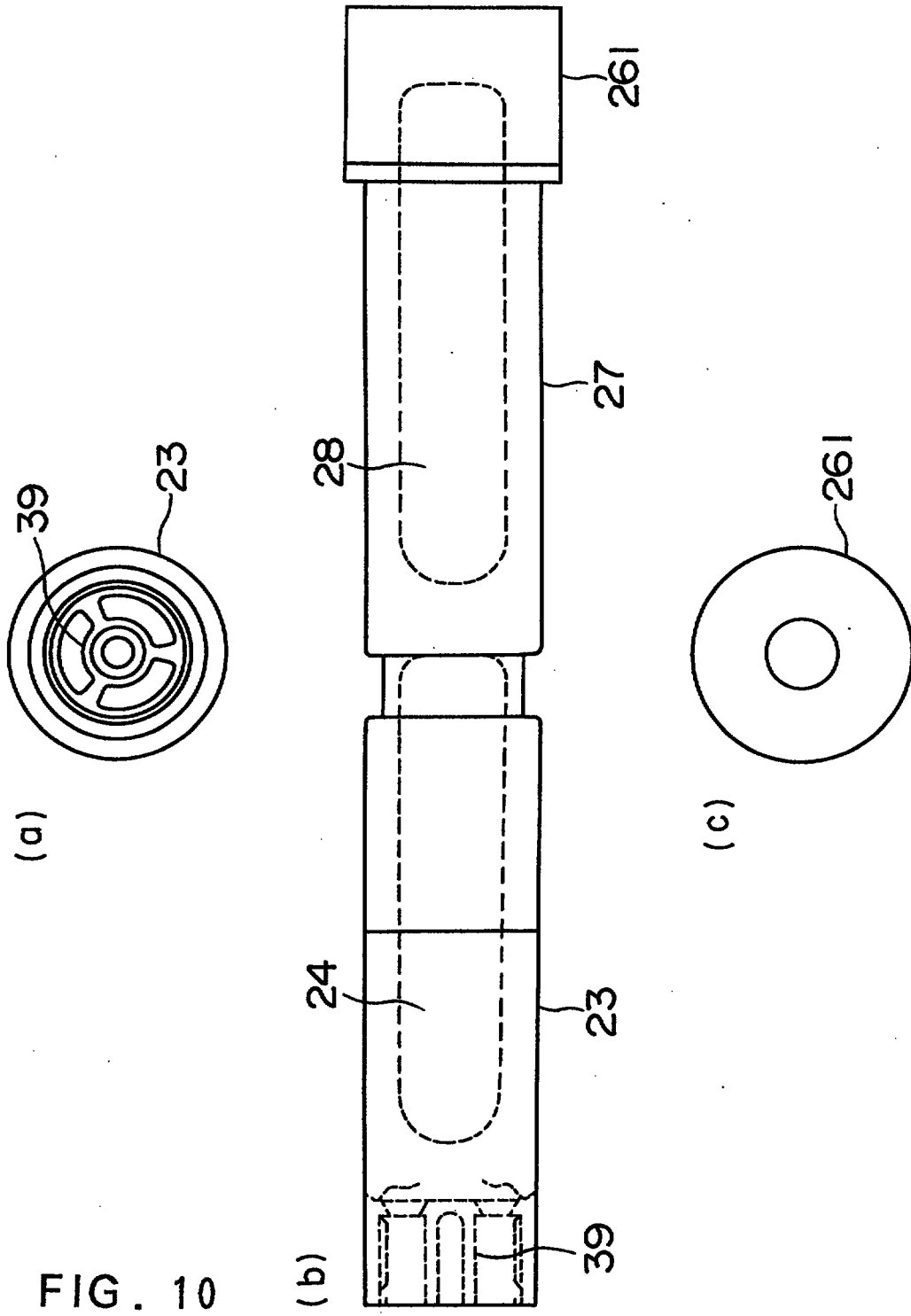


FIG. 9



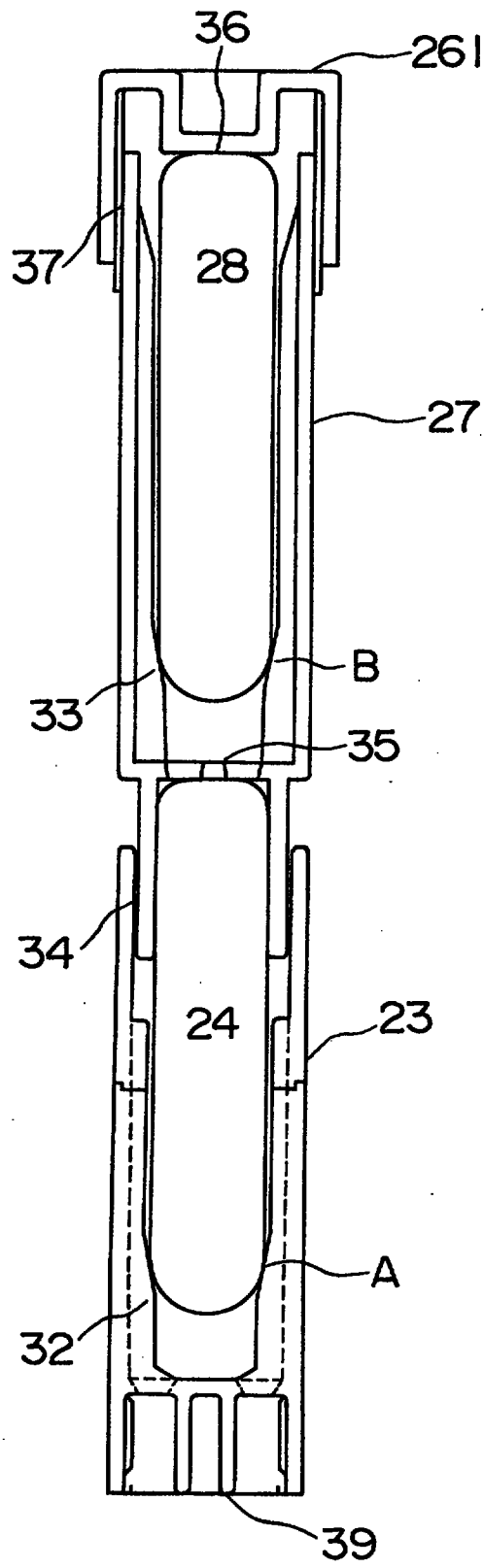


FIG. 11

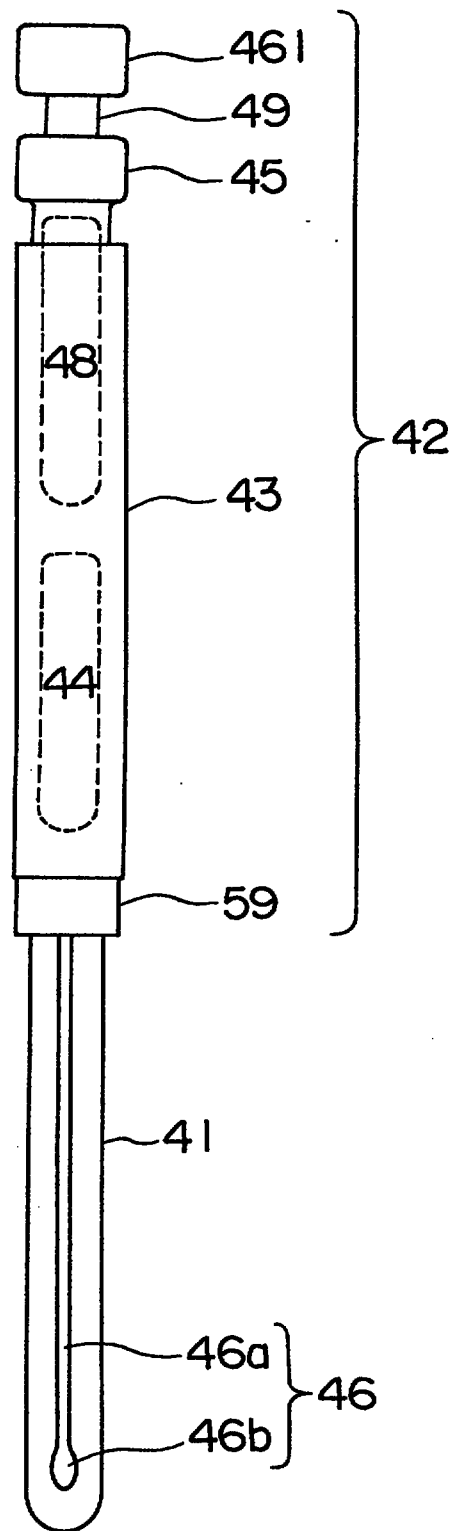


FIG. 12

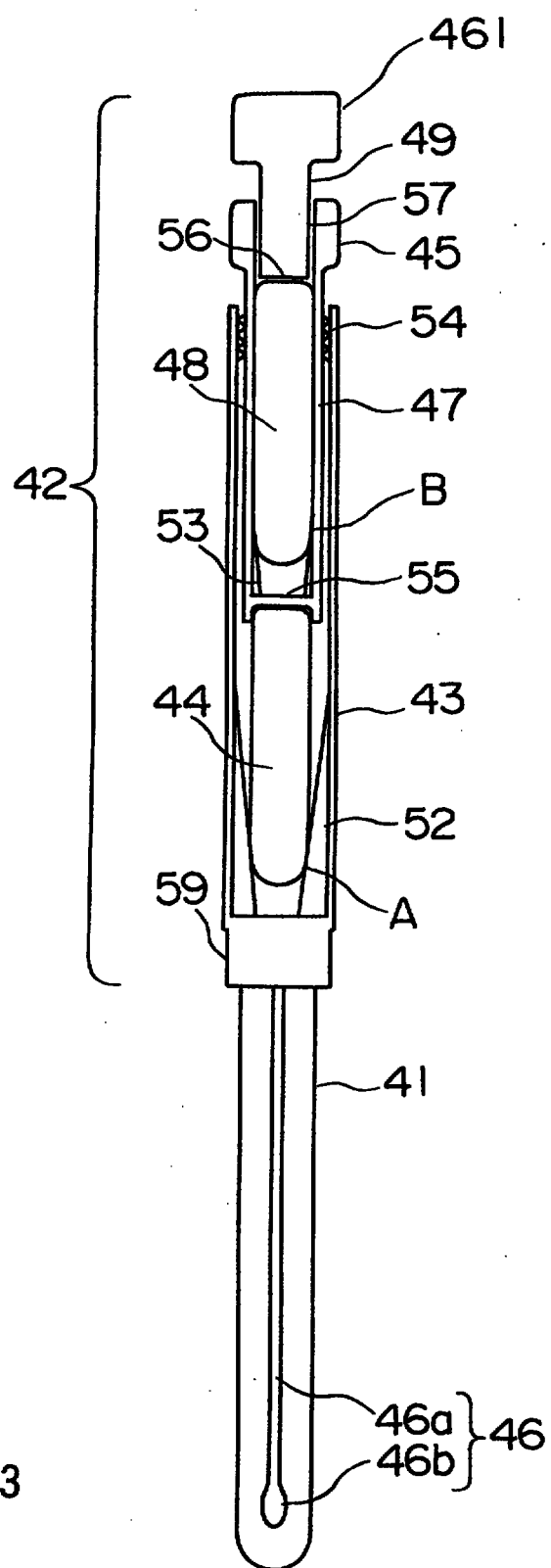


FIG. 13

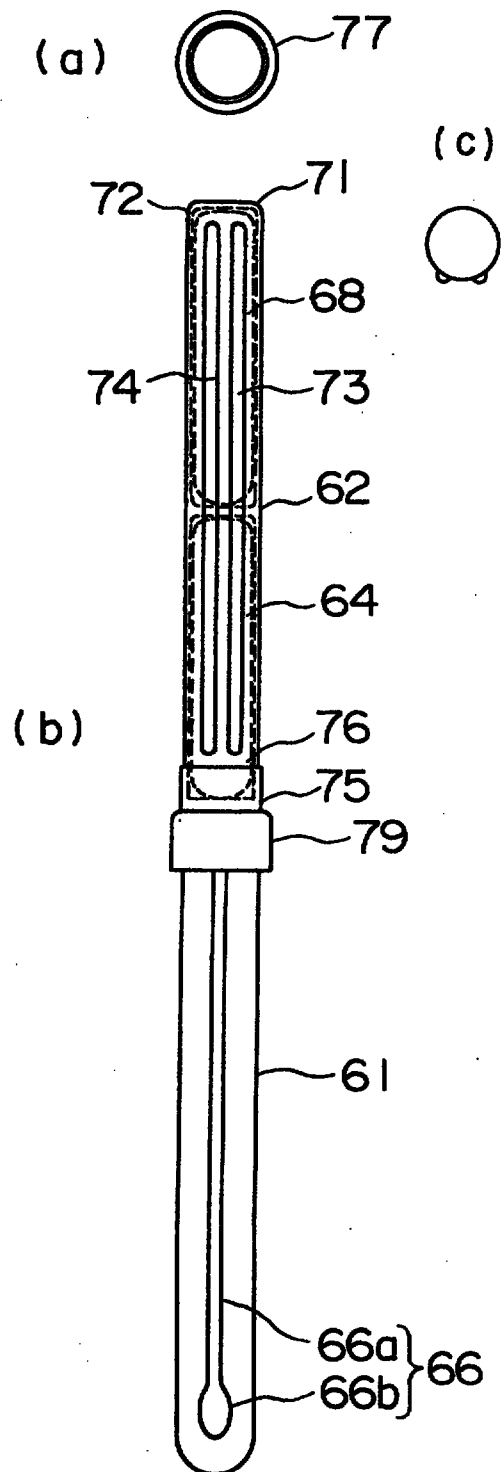


FIG. 14

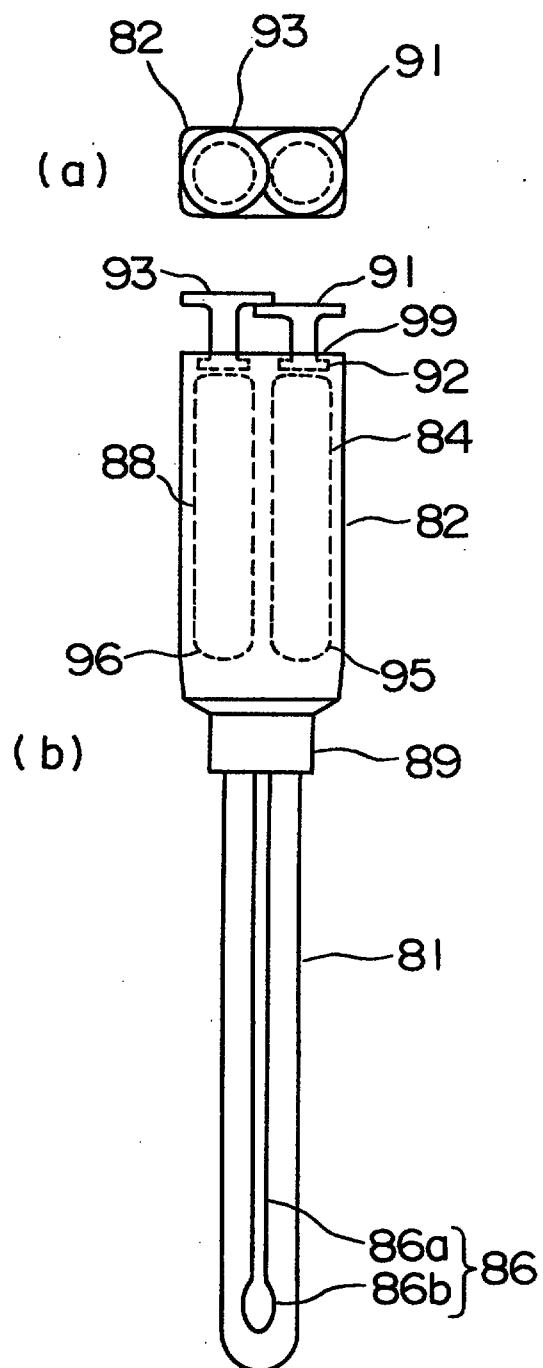


FIG. 15

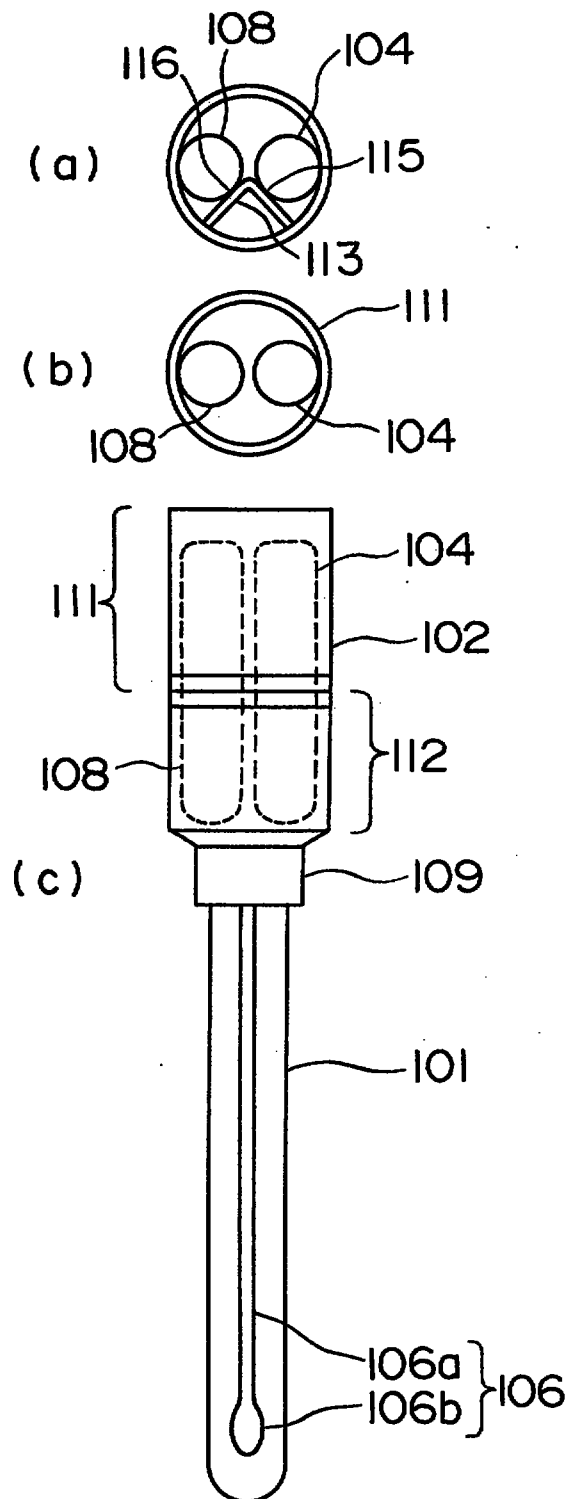


FIG. 16

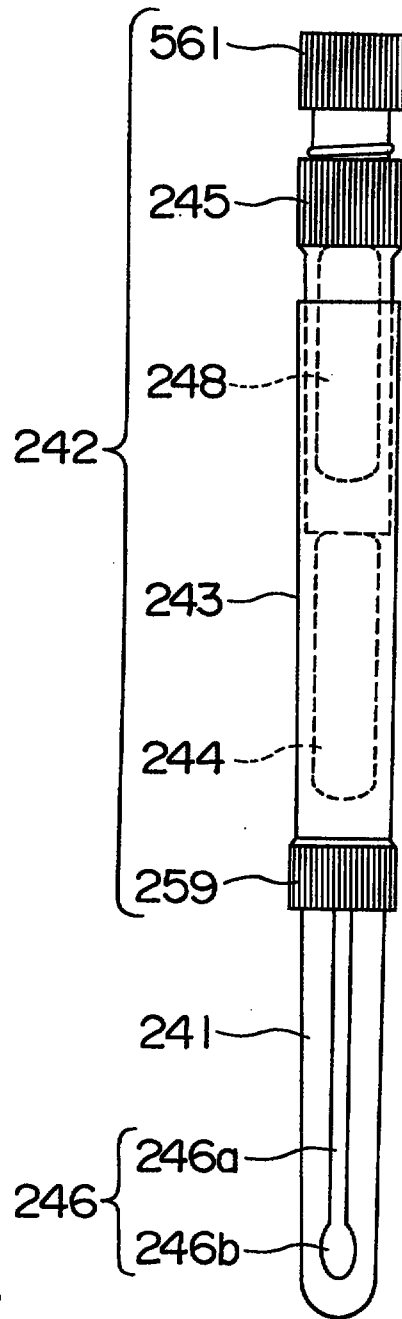


FIG. 17

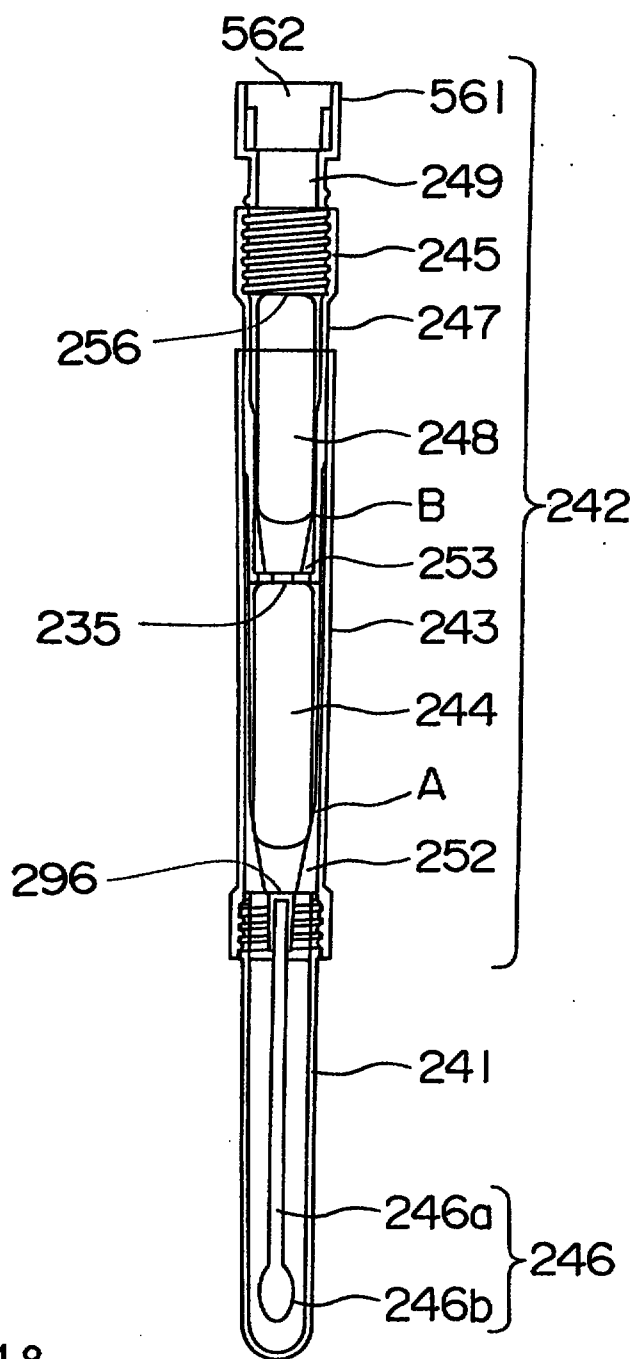


FIG. 18

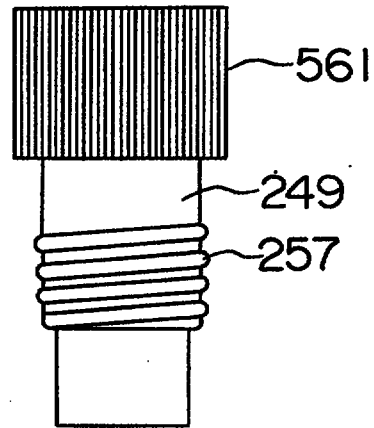


FIG. 19

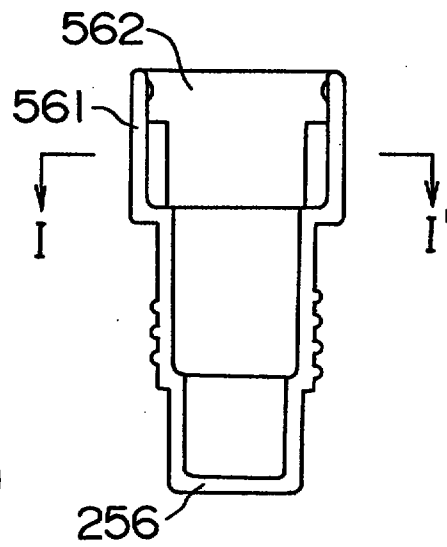


FIG. 20

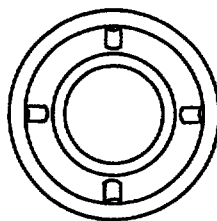


FIG. 21

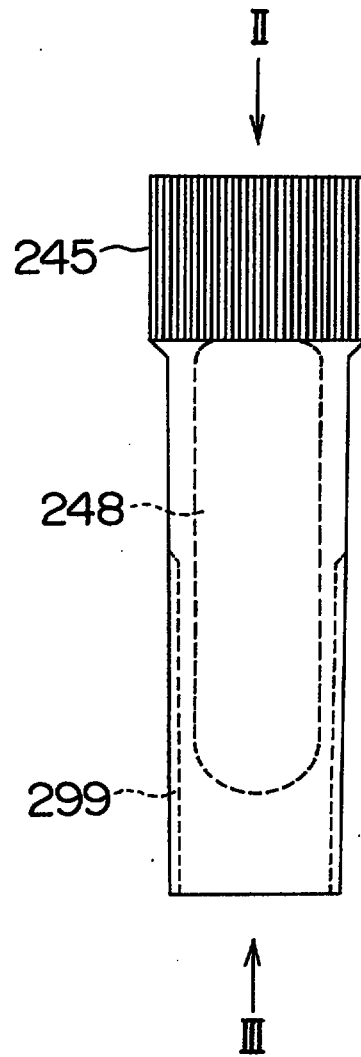


FIG. 22

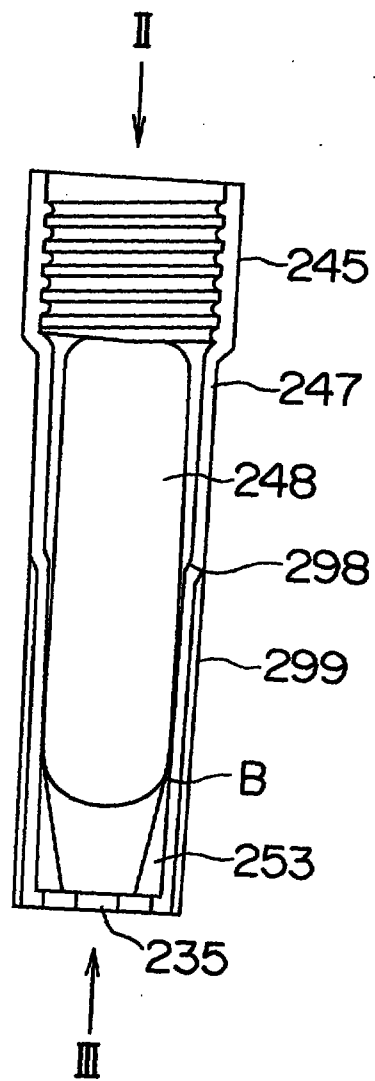


FIG. 23

FIG. 24

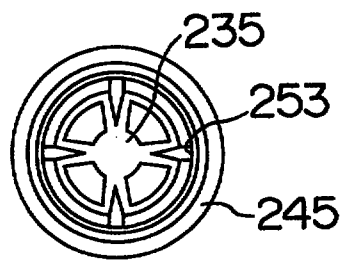
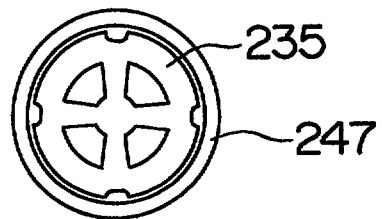


FIG. 25



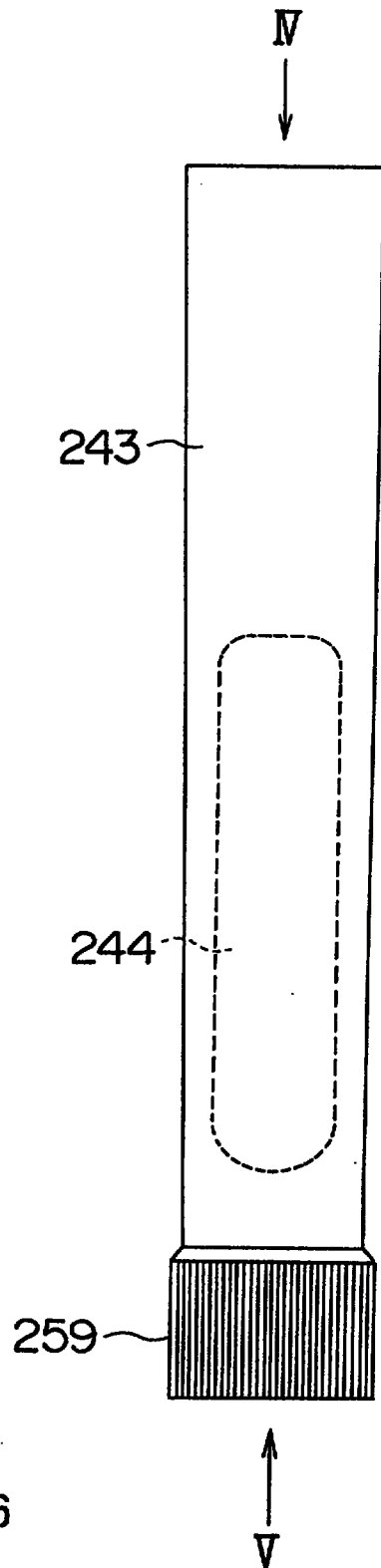


FIG. 26

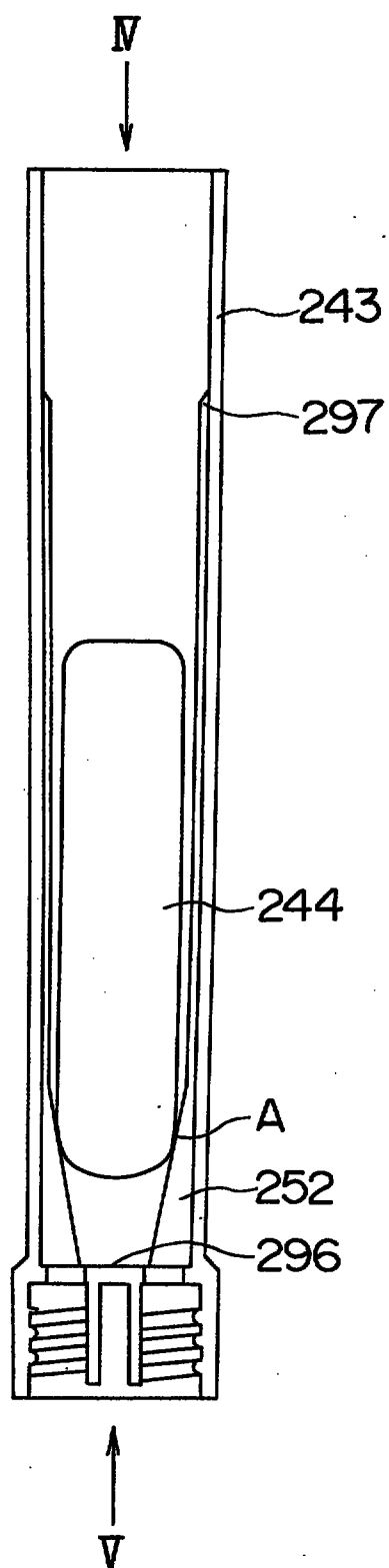


FIG. 27

FIG. 28

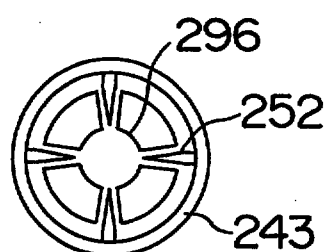
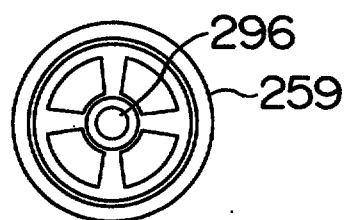


FIG. 29



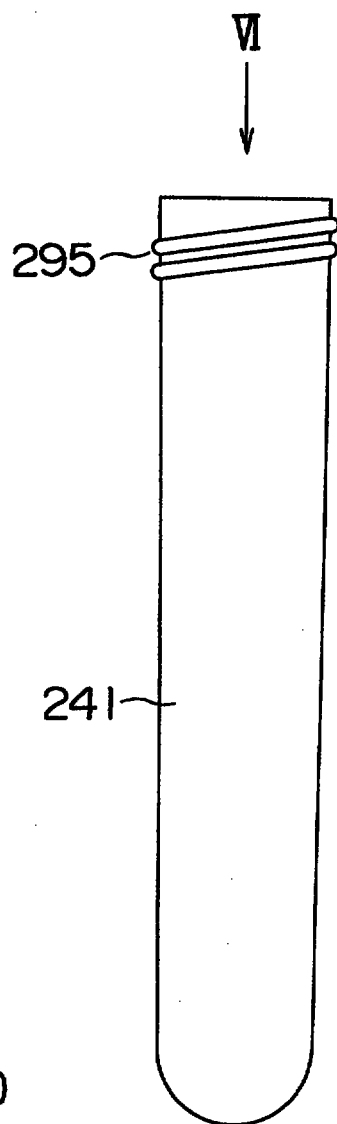


FIG. 30

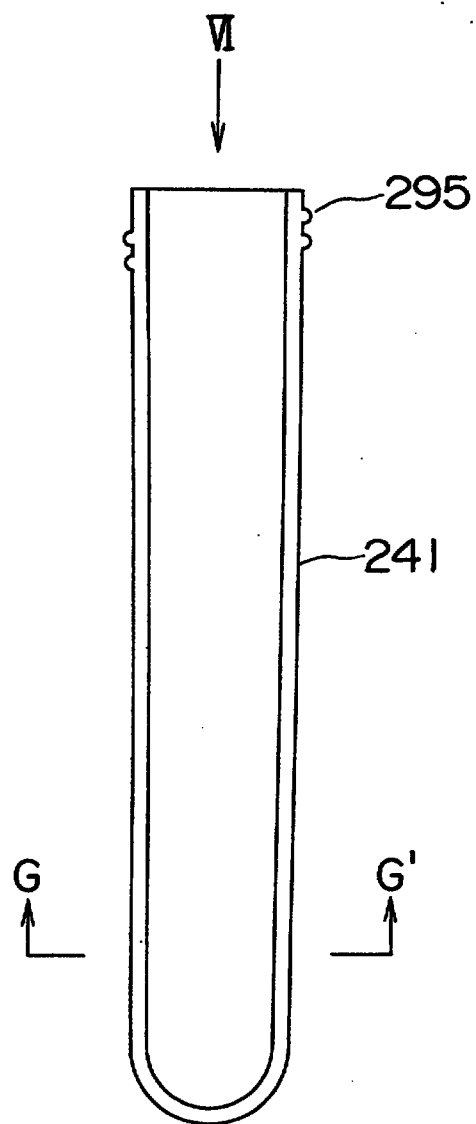


FIG. 31

FIG . 32

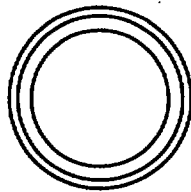
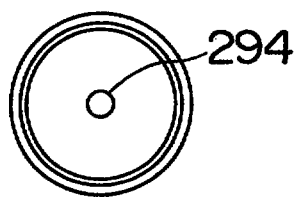


FIG . 33



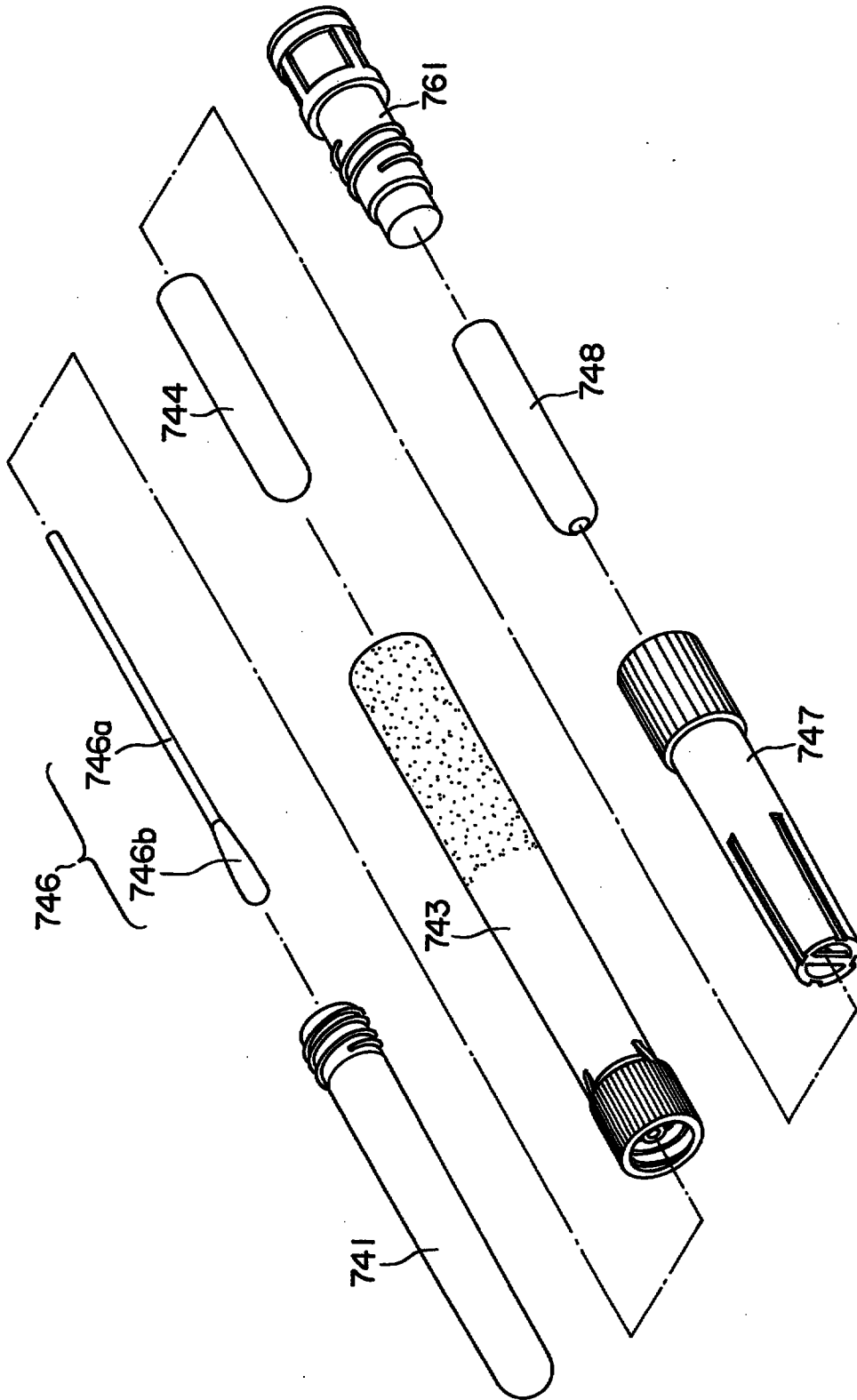


FIG. 34

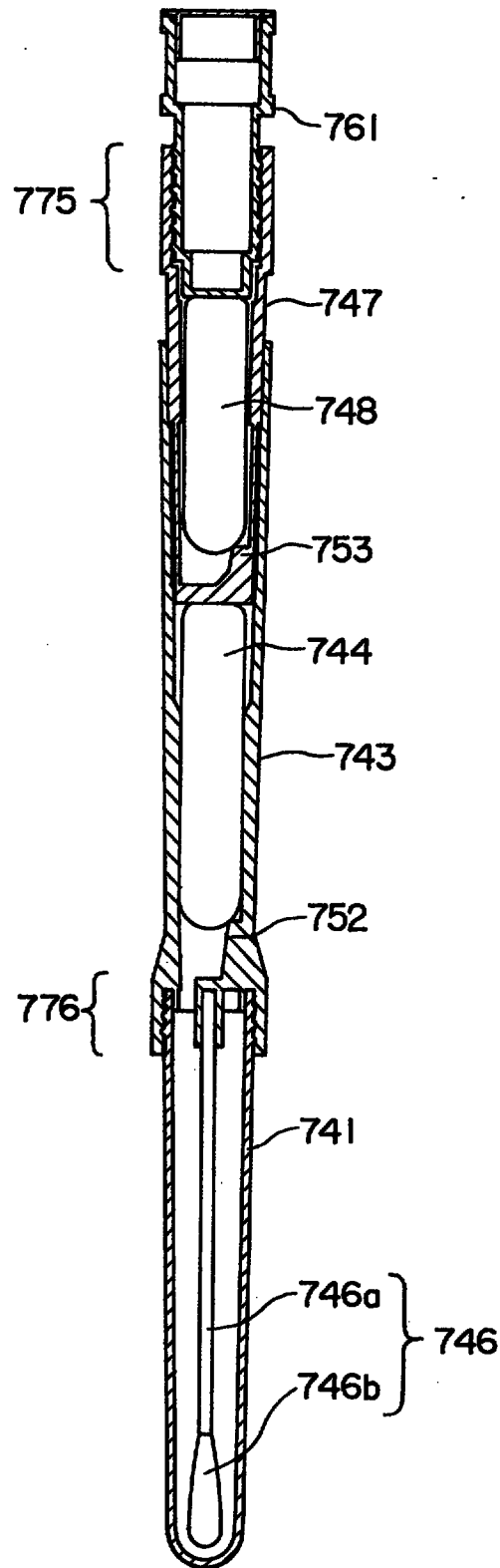


FIG. 35

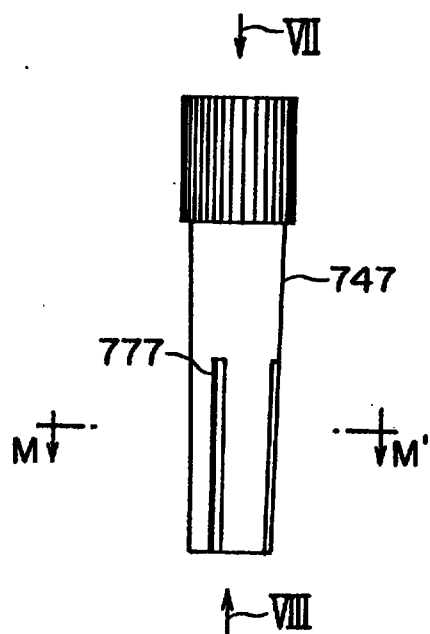


FIG. 36

FIG. 37

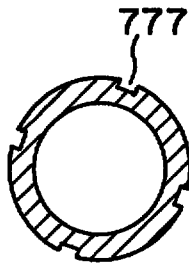


FIG. 38

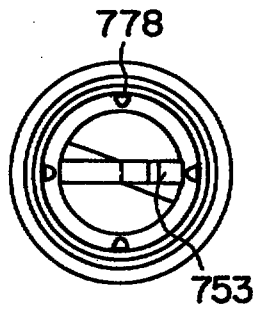
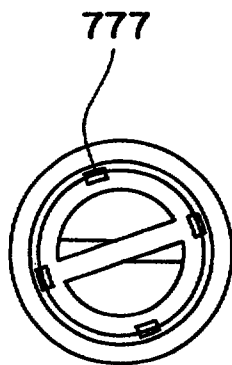


FIG. 39



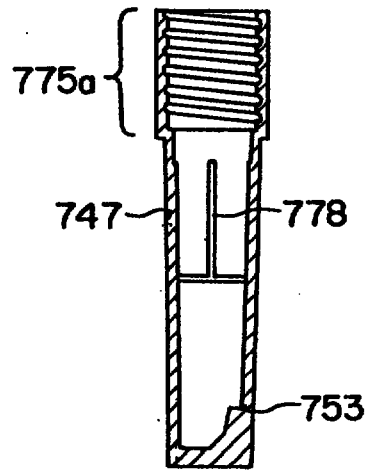


FIG. 40

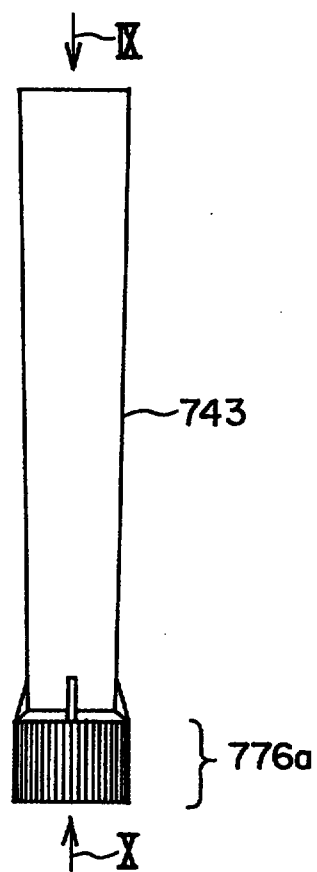


FIG. 41

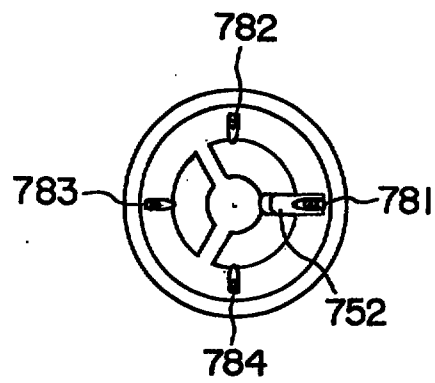


FIG. 42

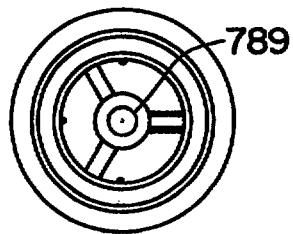


FIG. 43

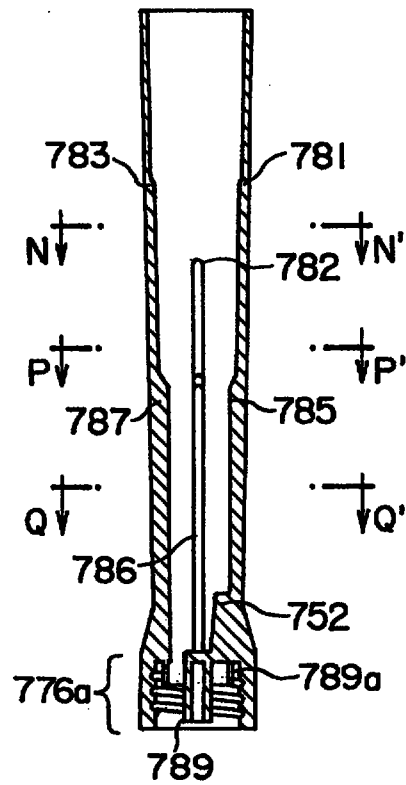


FIG. 44

FIG. 45

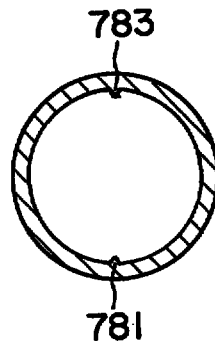


FIG. 46

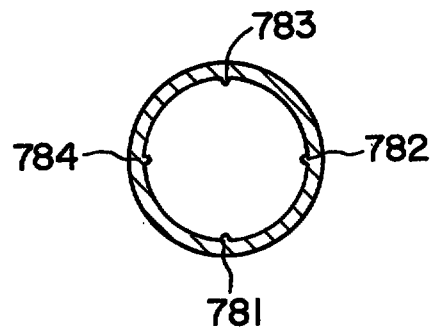
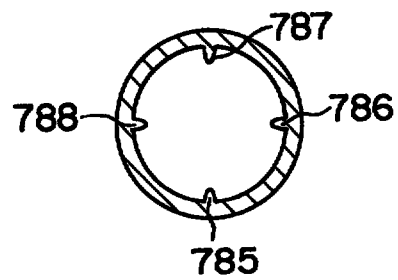


FIG. 47



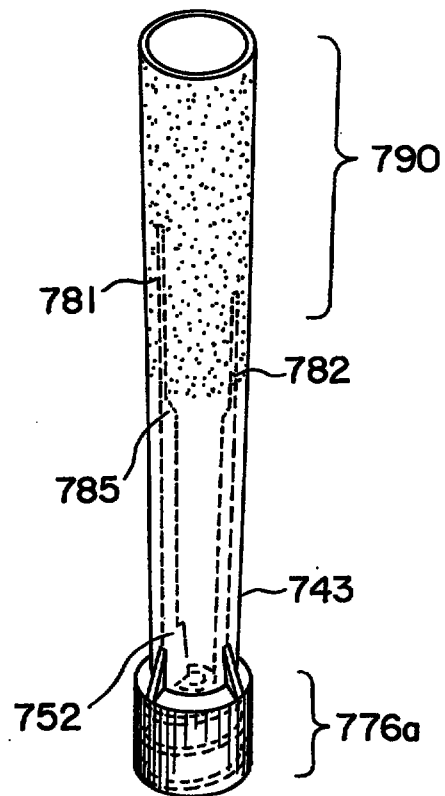


FIG. 48

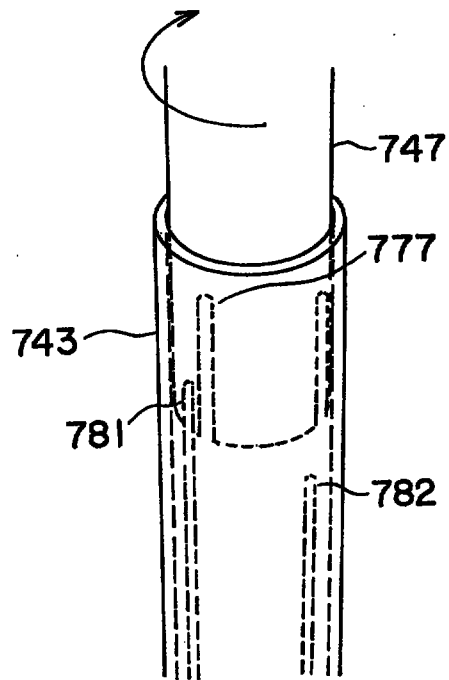


FIG. 49

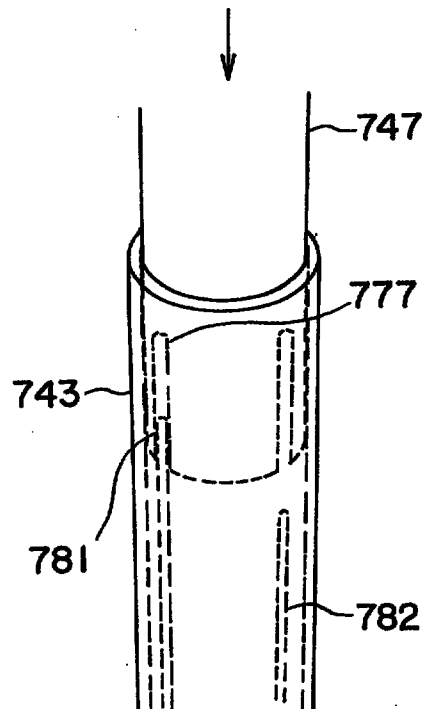


FIG. 50

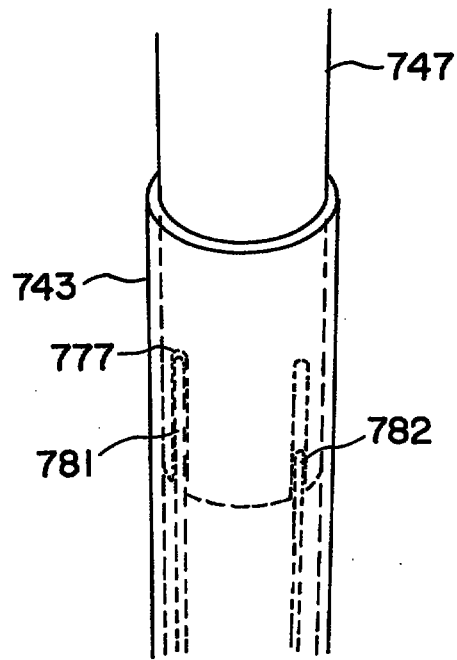


FIG. 51

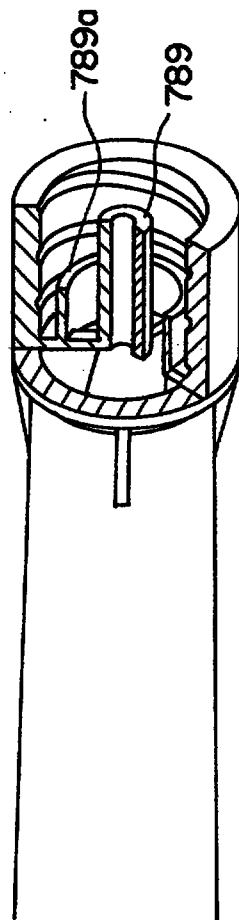


FIG. 52

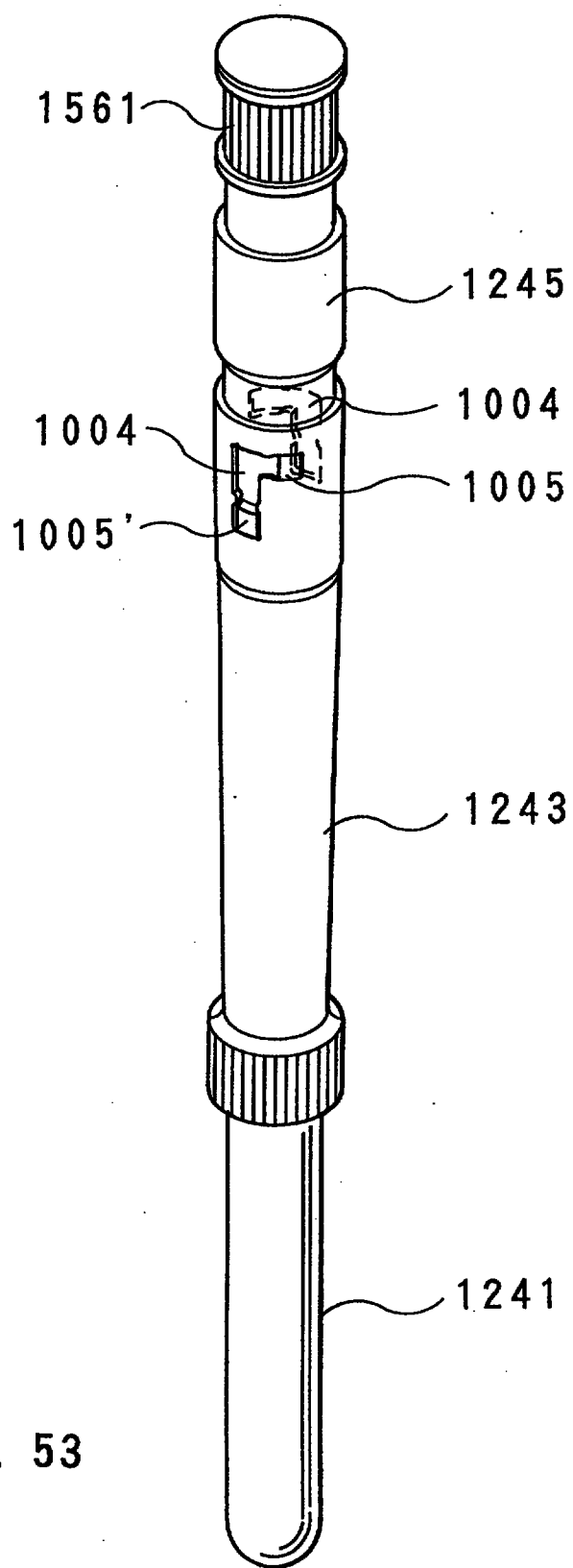
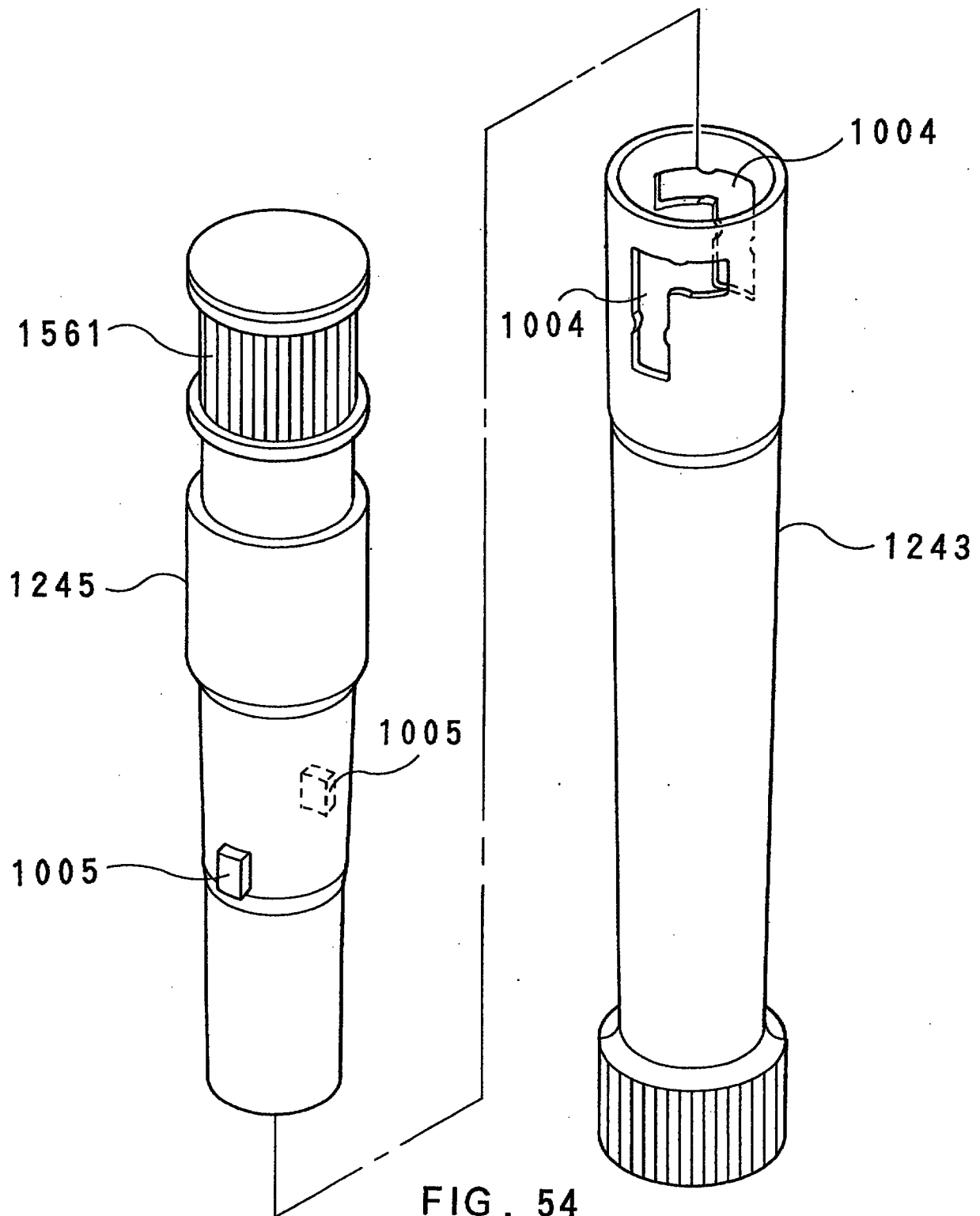


FIG. 53



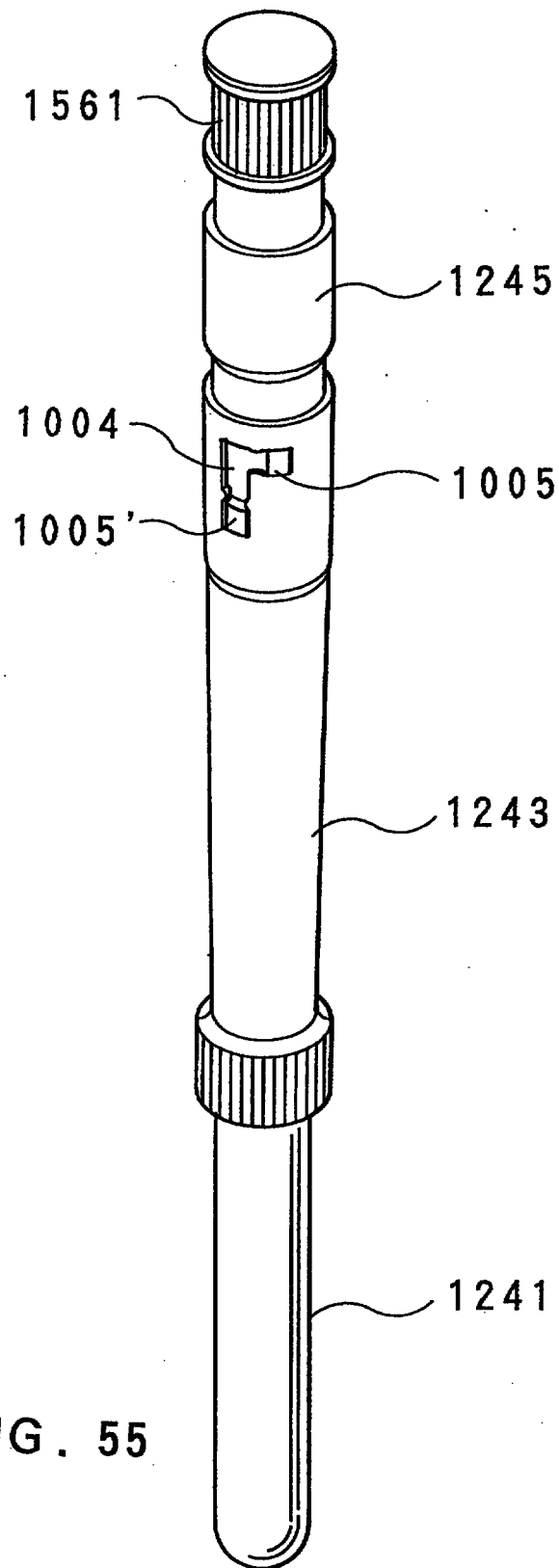
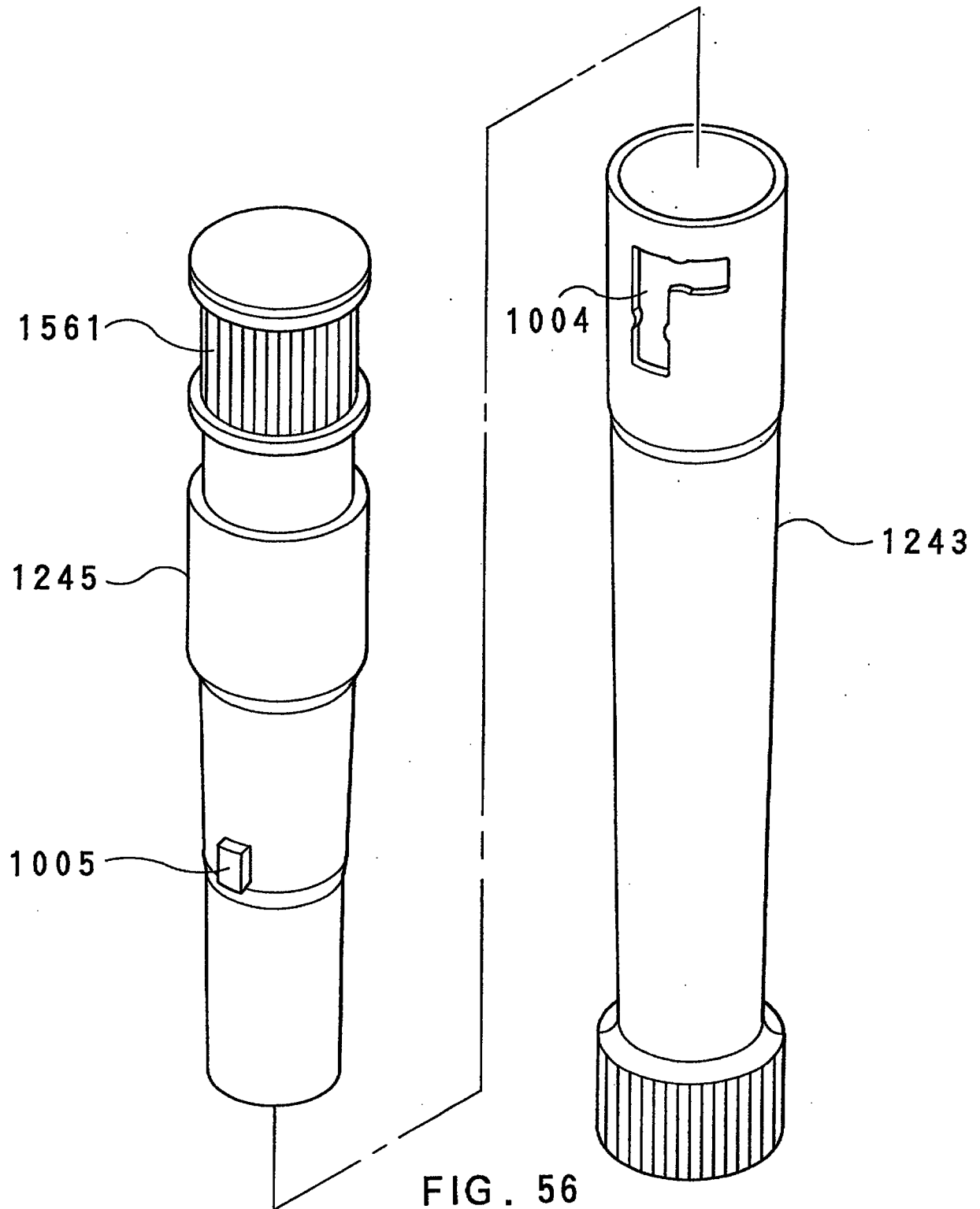


FIG. 55



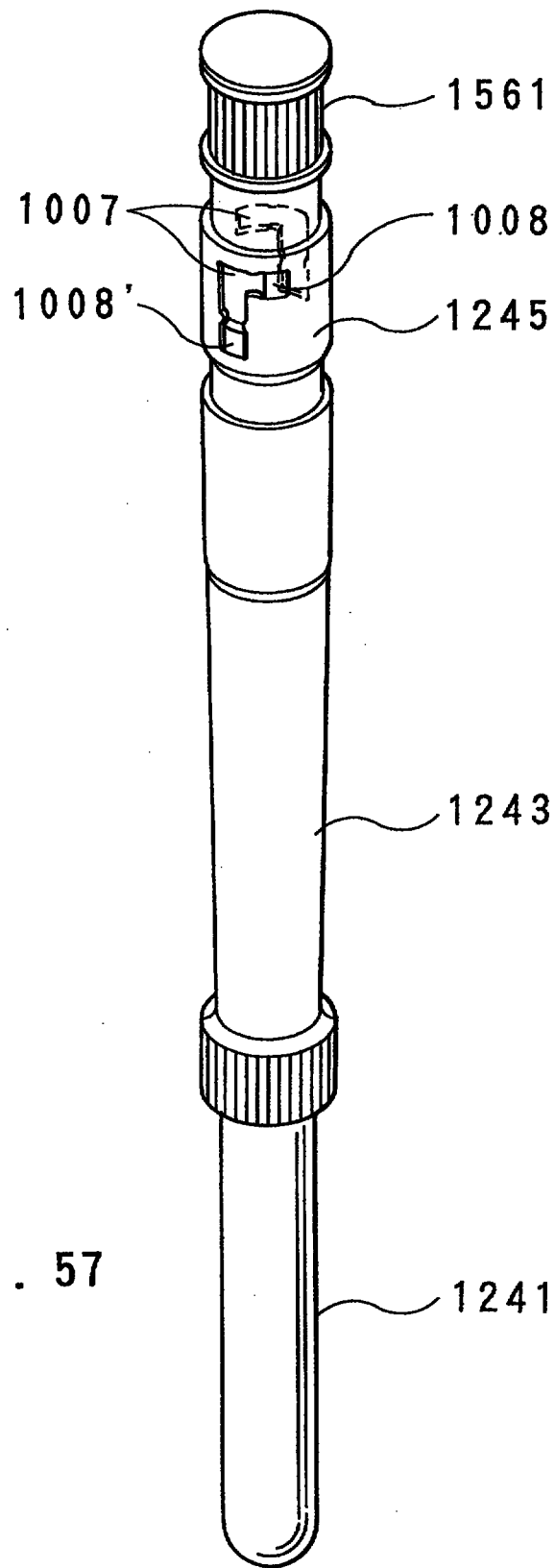


FIG. 57

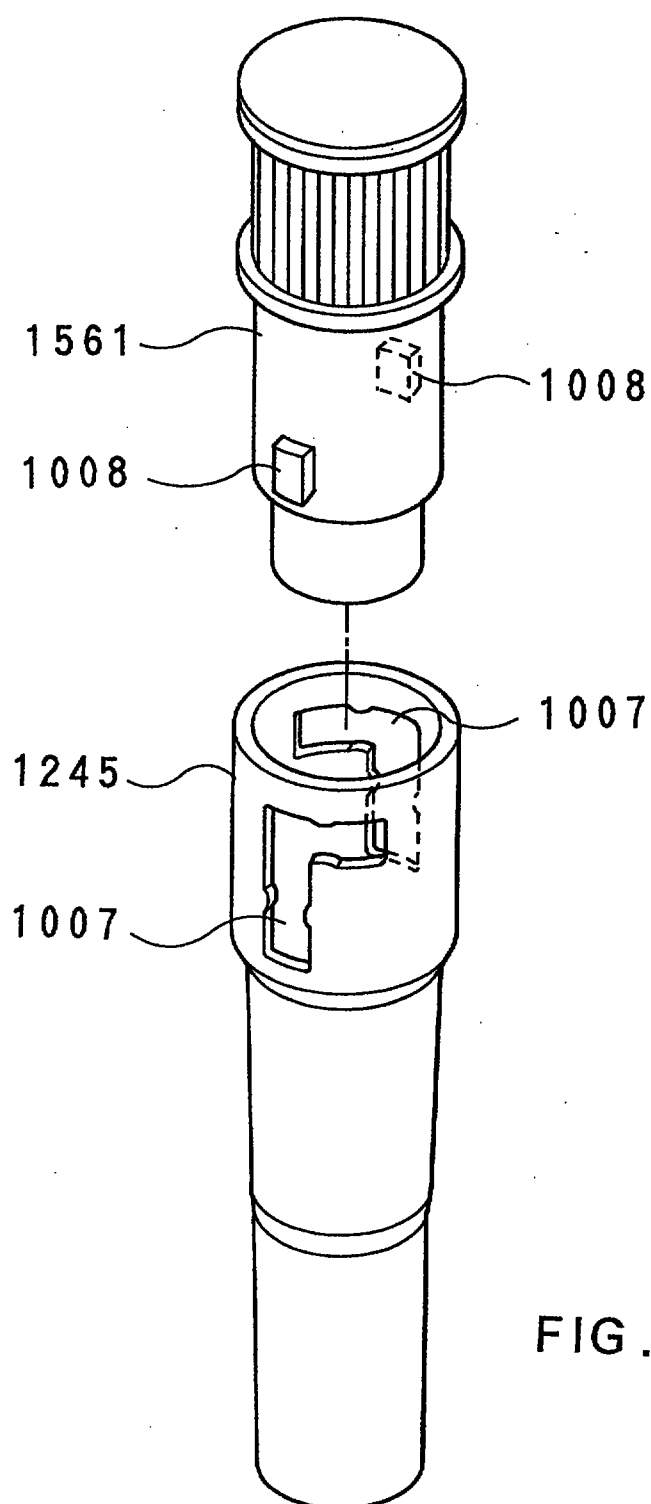


FIG. 58

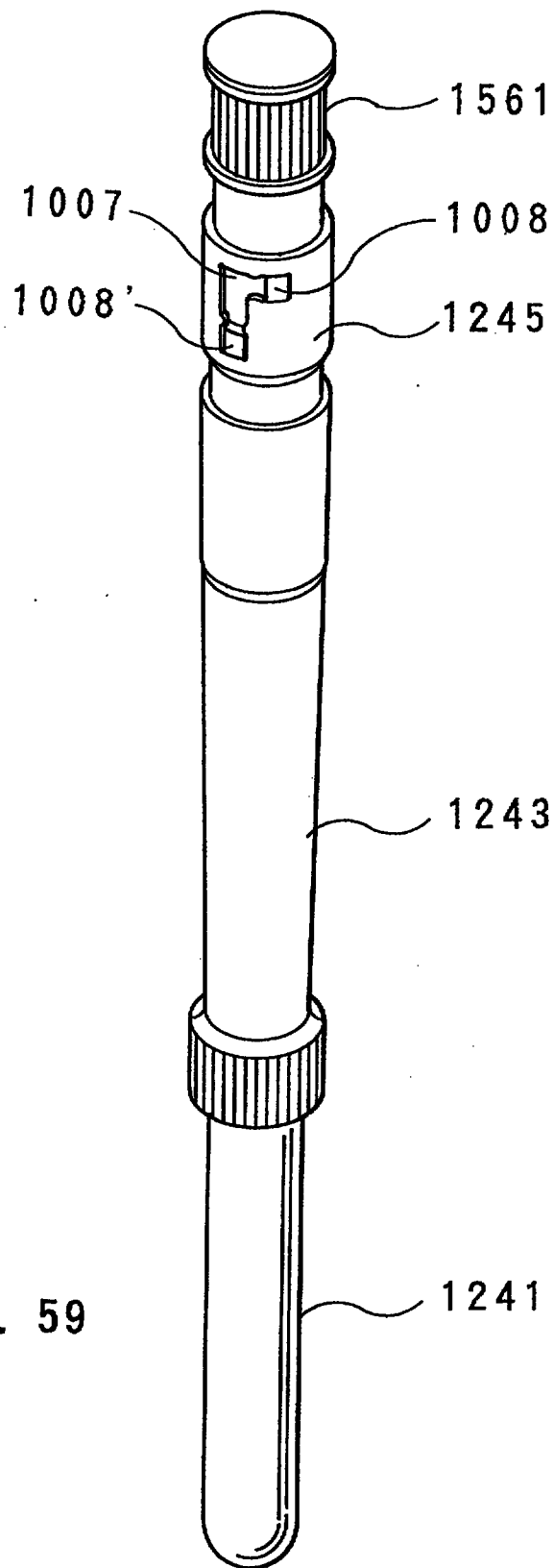


FIG. 59

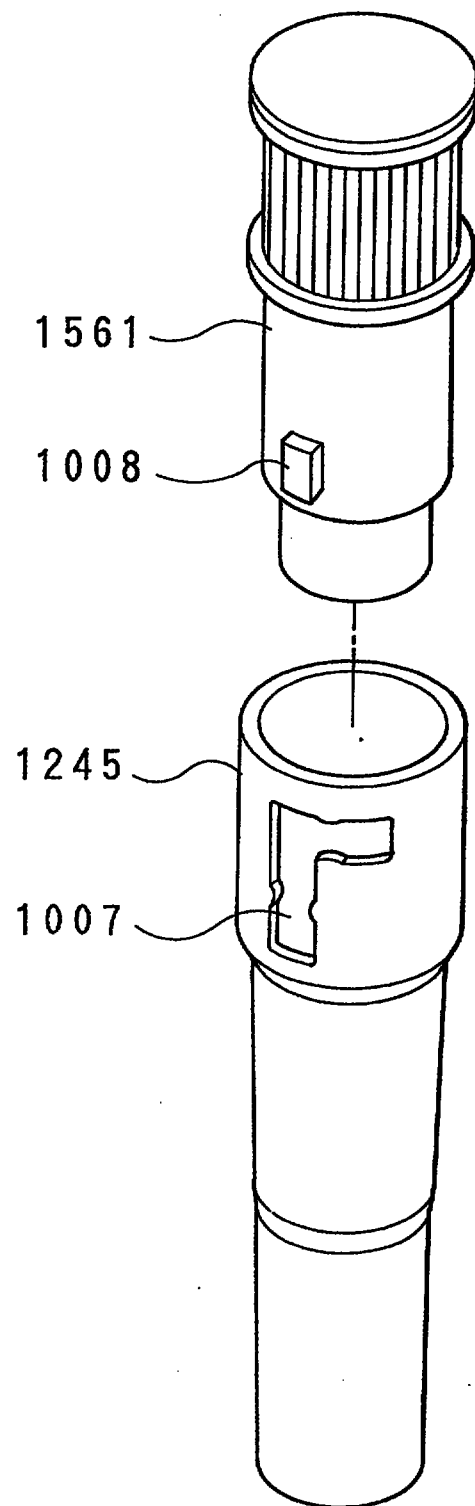


FIG. 60

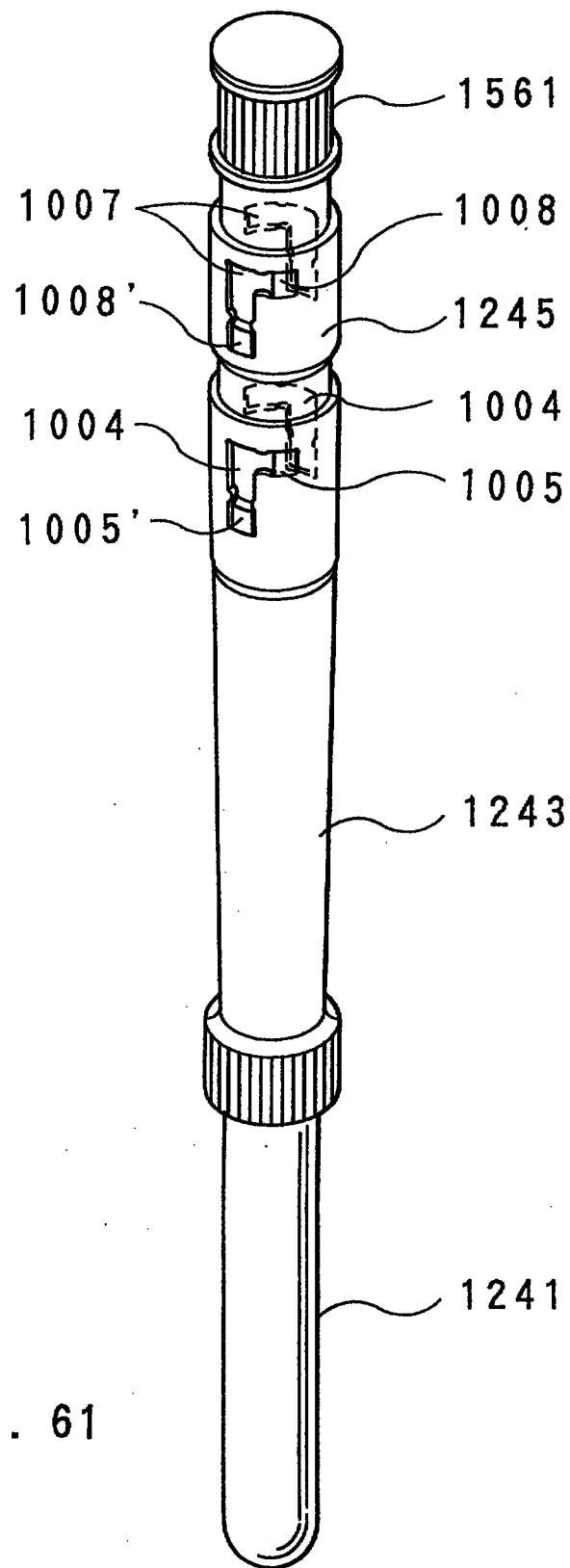


FIG. 61

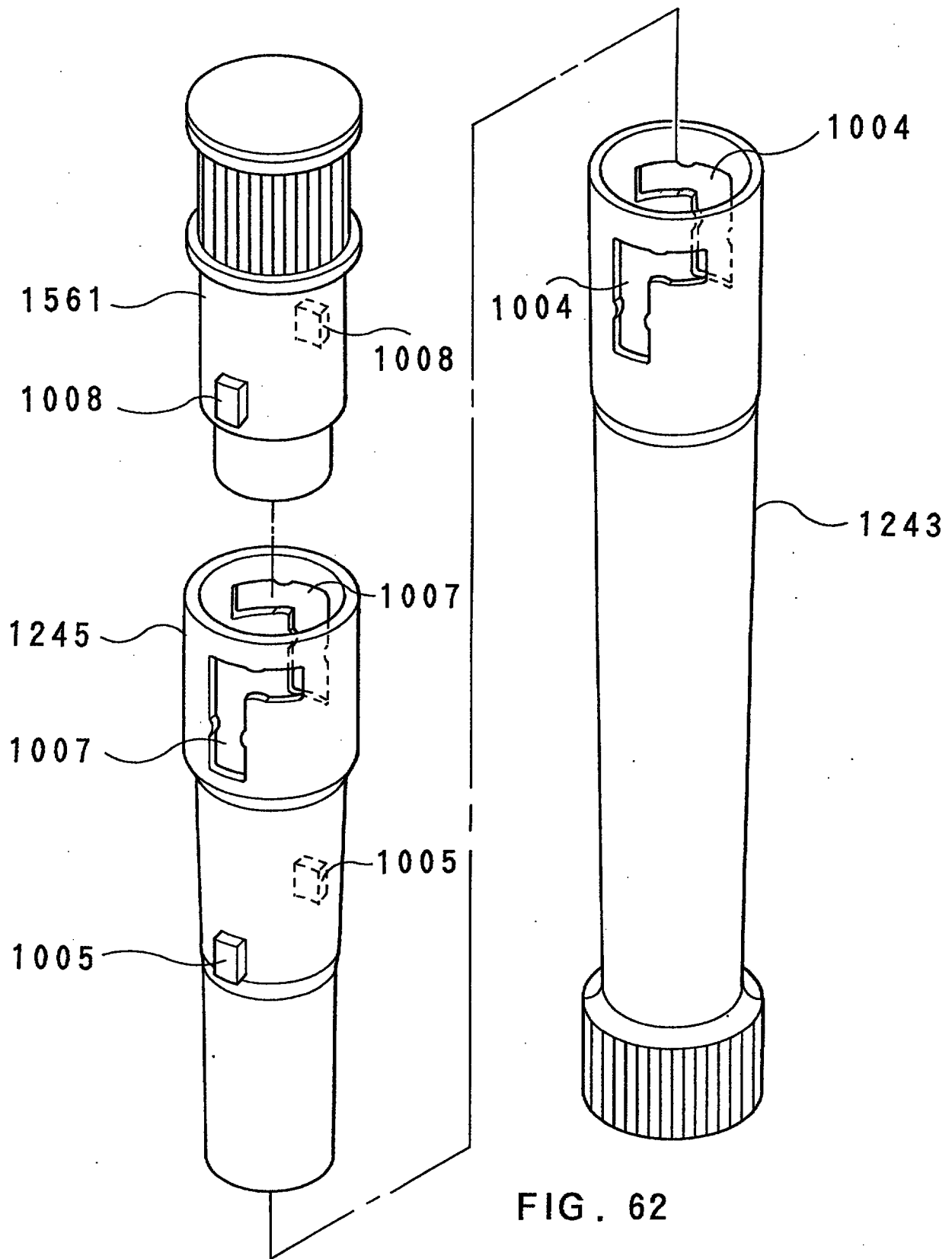


FIG. 62

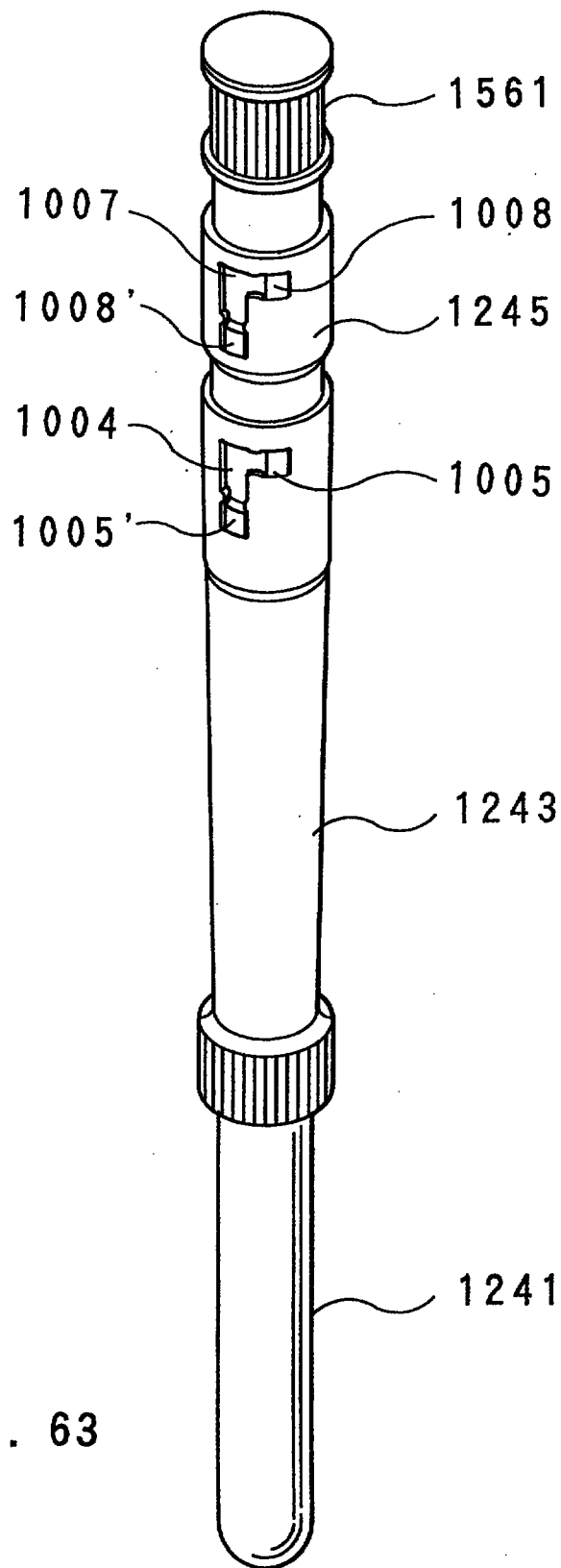


FIG. 63

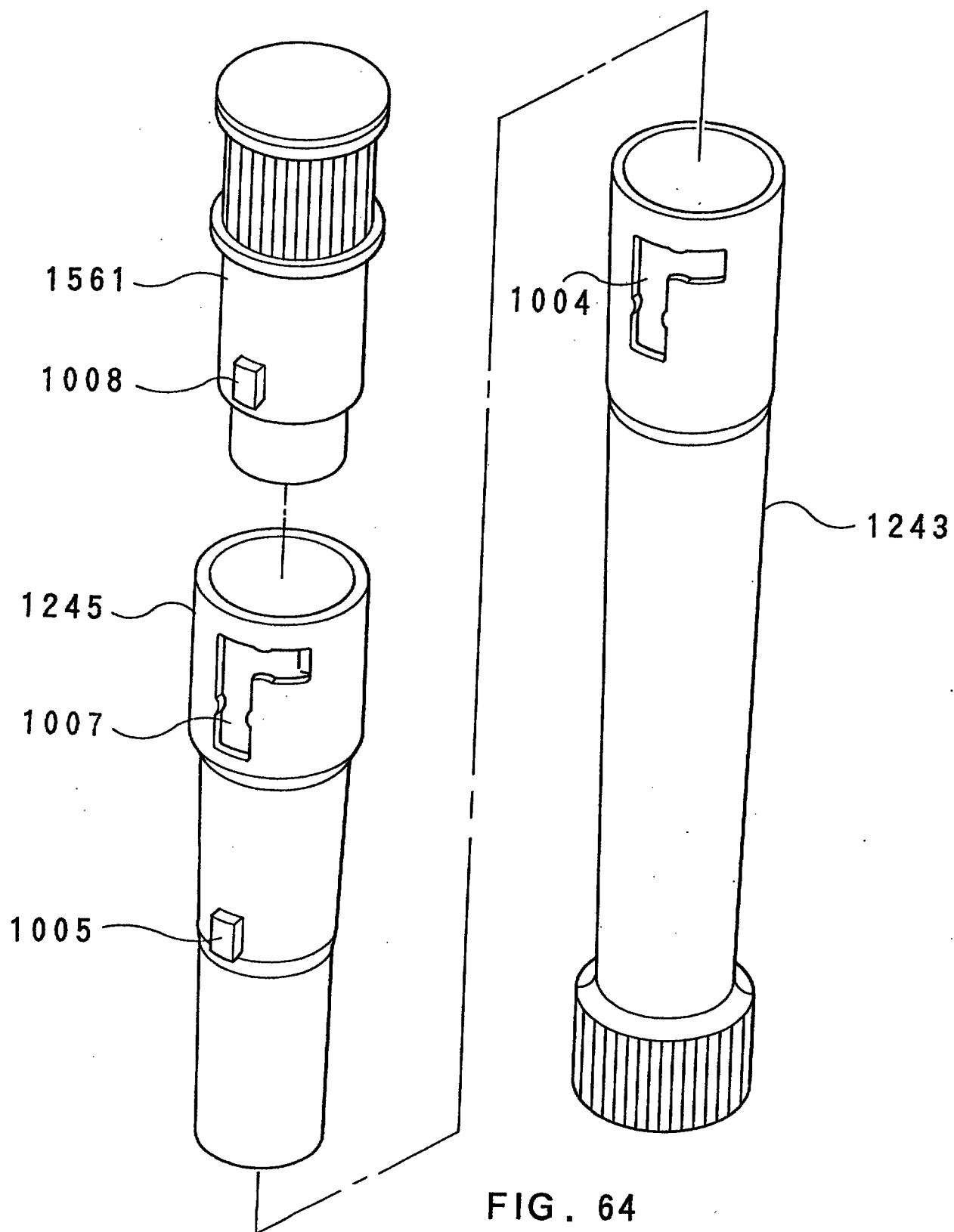


FIG. 64

FIG. 65

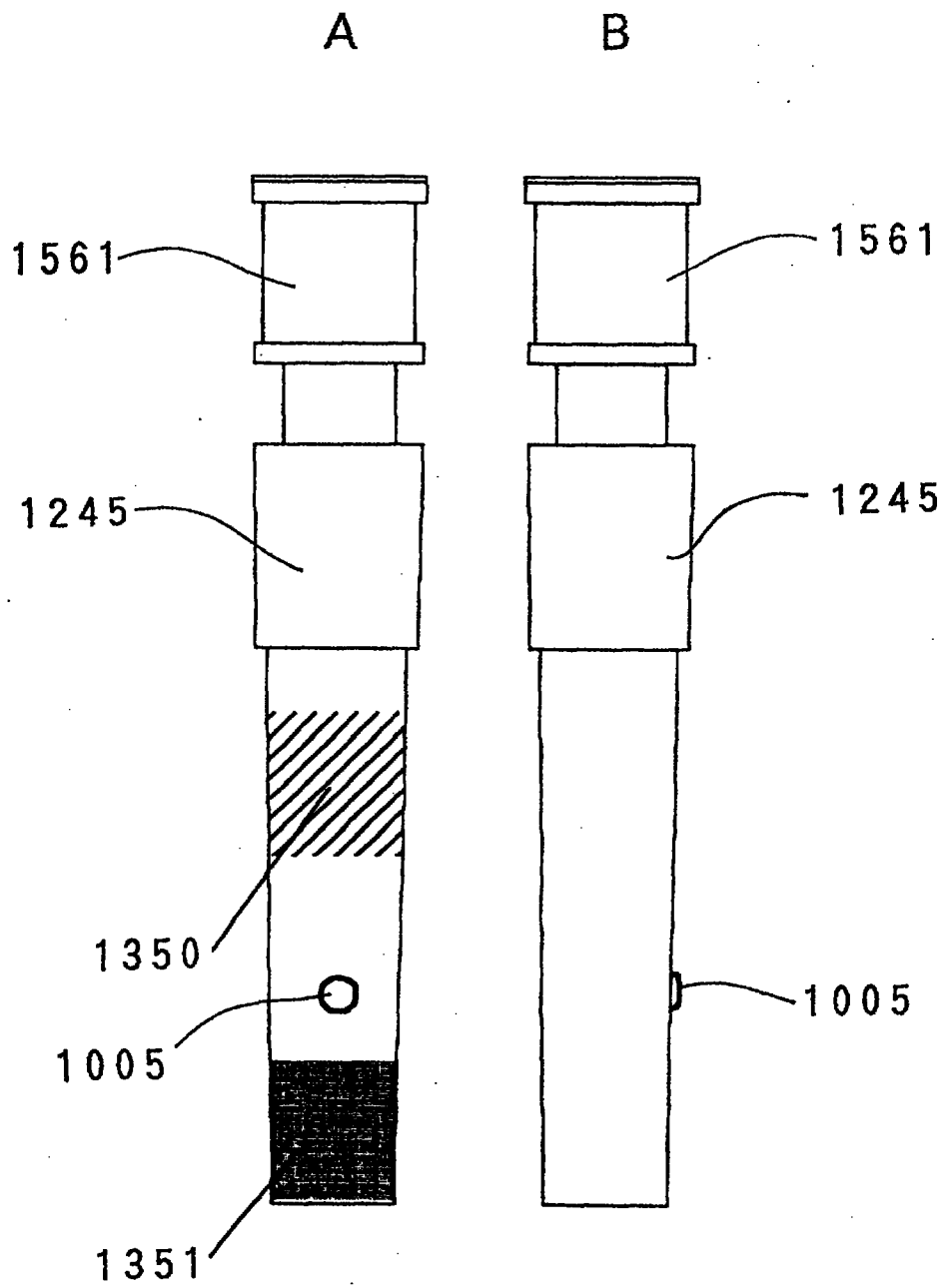


FIG. 66

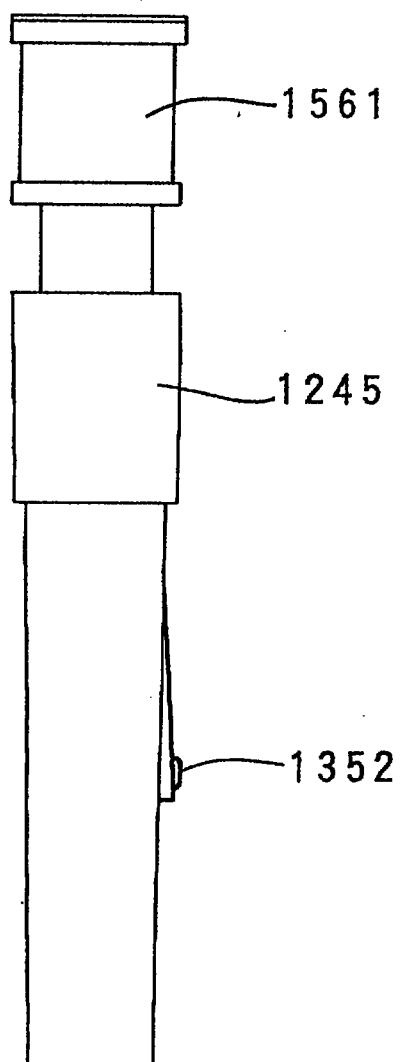


FIG. 67

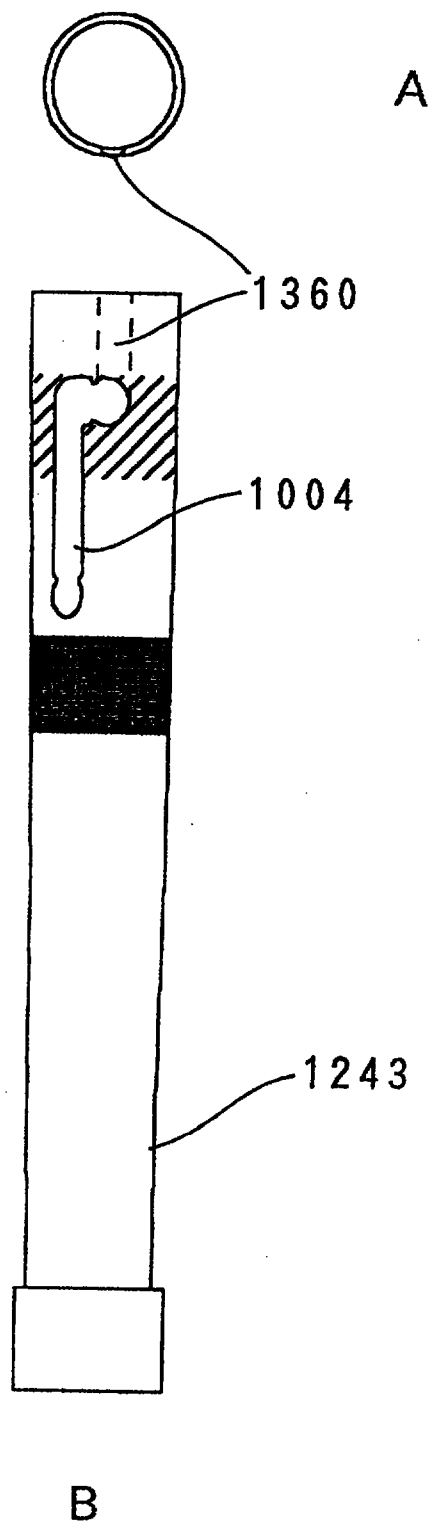


FIG. 68

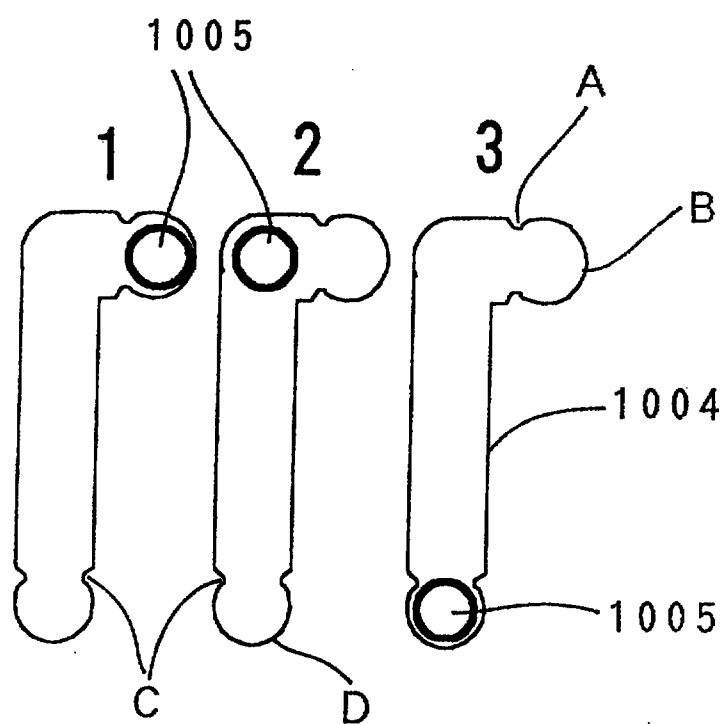
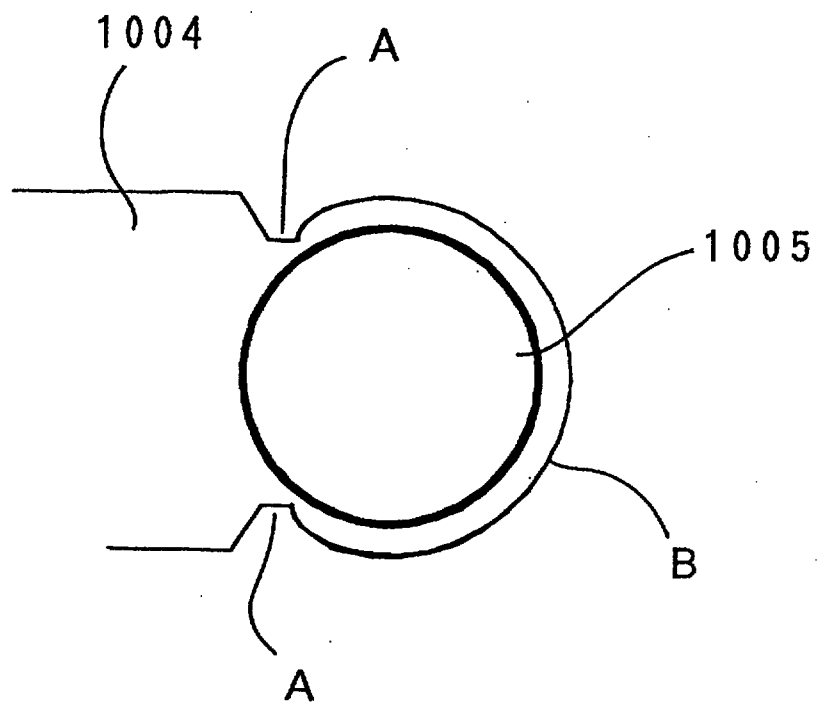


FIG. 69



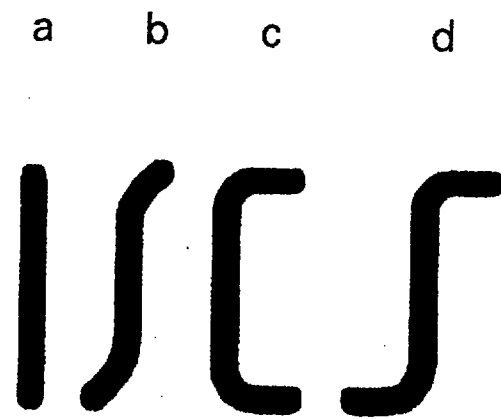


FIG. 70

FIG. 71

RELATION BETWEEN LIVING CELLS AND TURBIDITY

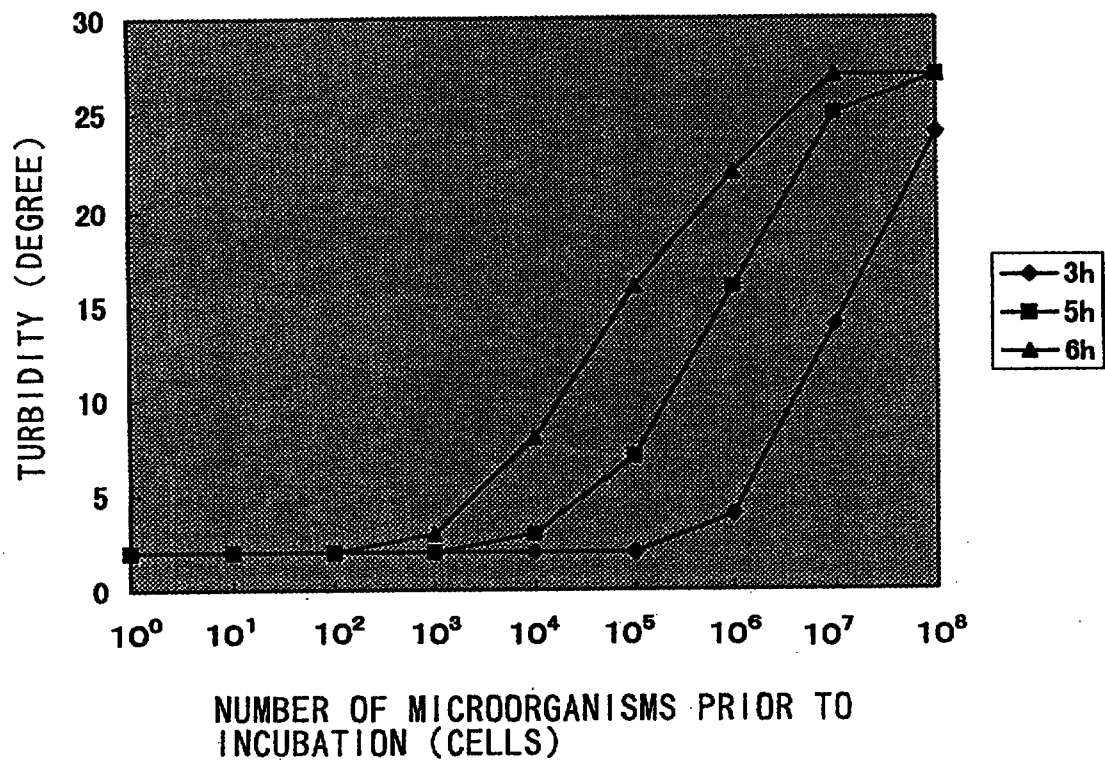
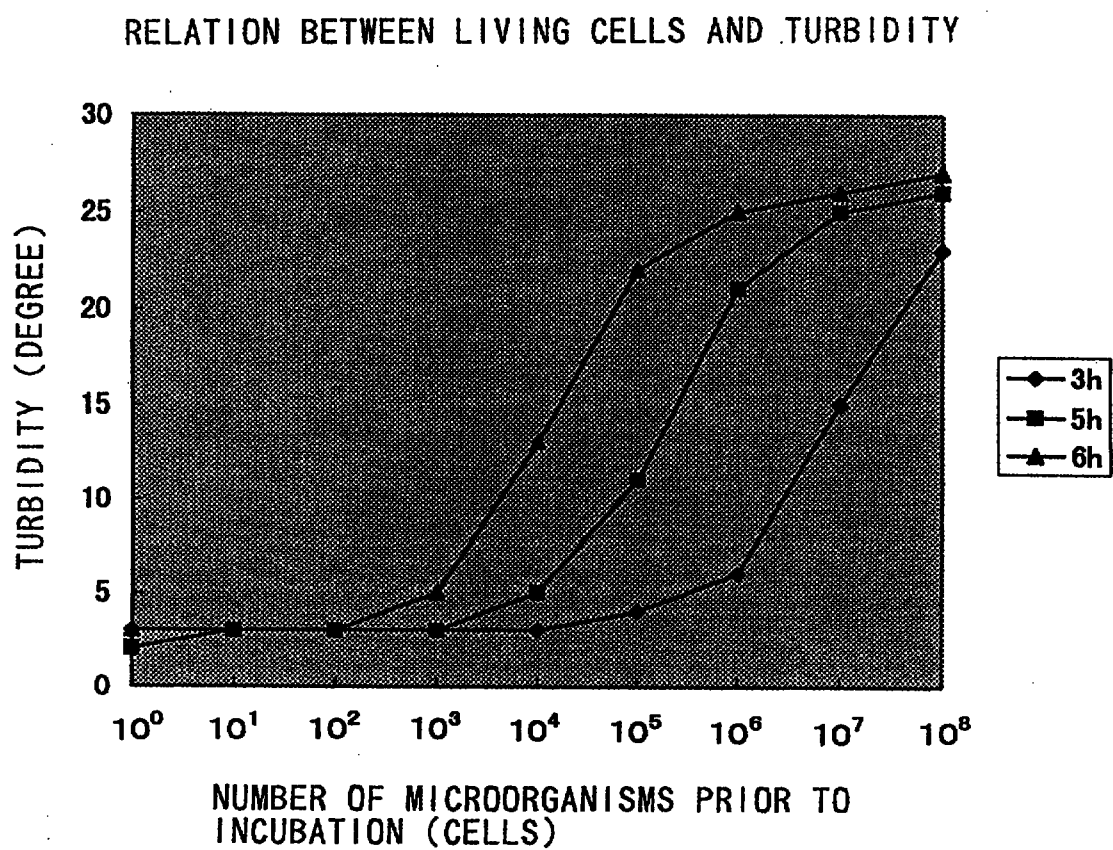


FIG. 72



1-00000000

2000 000 000

09 SEP 1998

9803469-7

Substitute sheet - 8 September 1998

- 9 7 -

TABLE 4
A) Modified Mannitol Salt Base Medium (Gram-Positive Cocci and Gram-Negative Rods)

Gram Positive/Antibiotics	S. aureus 209P	S. aureus TEN	S. aureus 003	S. agal- actiae	S. pyo- genes	S. epider- midis 2	S. epider- midis 5	S. sapro- phyticus	S. haemo- lyticus	E. faeca- lis 18	E. faeca- lis 7862
	24hr	48hr	72hr								
Aztreonam 10 µg/ml	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-
+ Polymyxin B 8 µg/ml	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-
+ Fluconazole 5 µg/ml	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+
Gram Negative/Antibiotics	Salmo- nella	Serratia	Enterobacter	Shigella	Escherichia	Klebsiella	Proteus	Proteus	Proteus	Pseudo- monas 1	Pseudo- monas 2
	24hr	48hr	72hr								
Aztreonam 10 µg/ml	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
+ Polymyxin B 8 µg/ml	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
+ Fluconazole 5 µg/ml	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Positive (+): Color of the medium turned yellow; Negative (-): Color of the medium turned red

09 SEP 1998

Substitute sheet - 8 September 1998

- 1 0 0 -

TABLE 5
B) Modified Polymyxin Salt Base Medium (Gram-Positive Cocci and Gram-Negative Rods)

Gram Positive/Antibiotics		S. aureus 209P	S. aureus TEN	S. aureus 003	S. agal- actiae	S. pyo- genes	S. epider- midis 2	S. epider- midis 5	S. sapro- phyticus	S. haemo- lyticus	E. faeca- lis 18	E. faeca- lis 7862
		Polymyxin B 10 µg/ml + Fluconazole 5 µg/ml + Potassium Tellurite	24hr 48hr 72hr	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -
Gram Negative/Antibiotics		Salmo- nella	Serratia	Entero- bacter	Shigella	Escher- ichia	Klebsi- ella	Proteus 1	Proteus 19	Proteus 20	Pseudo- monas 1	Pseudo- monas 2
		Polymyxin B 10 µg/ml + Fluconazole 5 µg/ml + Potassium Tellurite	24hr 48hr 72hr	- - -	- - -	- - -	- - -	- + +	+ + +	+ + +	- - -	- - -

Positive (+): Color of the medium turned yellow; Negative (-): Color of the medium turned green

09 SEP 1998

Substitute sheet - 8 September 1998

- 1 0 2 -

TABLE 6

C) Modified Xylose-Lysine Base Medium (Gram-Positive Cocci and Gram-Negative Rods)

Gram Positive/Antibiotics	S. aureus	S. aureus	S. aureus	S. agal-	S. pyo-	S. epider-	S. epider-	S. sapro-	S. haemo-	E. faeca-	E. faeca-
	209P	TGN	003	actiae	genes	midis 2	midis 5	phyticus	lyticus	Iis 18	Iis 7862
Fluconazole 5 µg/ml	24hr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	48hr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	72hr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gram Negative/Antibiotics	Salmo-	Serratia	Enterobacter	Shigella	Escher-	Klebsl-	Proteus	Proteus	Proteus	Pseudo-	Pseudo-
	nella		bacter		ichia	ella		19	20	monas 1	monas 2
	24hr	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fluconazole 5 µg/ml	48hr	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	72hr	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-

Positive (+): Color of the medium turned black; Negative (-): Color of the medium turned purple or yellow

Salmonellacolor of the medium:

black

Escherichia coli

Citrobacter spp

Klebsiella spp

Enterobacter spp

Proteus spp

color of the medium:

yellow

Shigella spp

Serratia spp

Pseudomonas spp

color of the medium:

purple

REPLACEMENT SHEET

09 SEP 1998

Substitute sheet - 8 September 1998

- 1 0 4 -

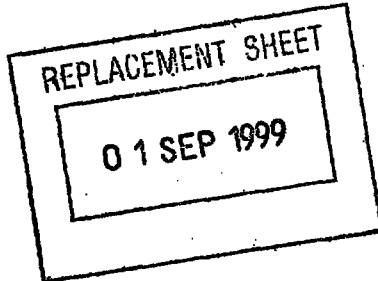
and the medium (3) enclosed in said first bag-shaped member (4) was made to fall down into the container. As a result, the microorganism-collecting end (6b) in the the microorganism-collecting part (6) dipped into the medium (3) (it was possible to prevent the stuffs other than the medium (such as broken pieces of the first bag-shaped member (4)) from falling-down into the container).

Incubation was then conducted at 37 °C for 16 to 24 hours in such a state that the microorganism-collecting end (6b) of the microorganism-collecting part (6) was dipped in a medium (3) whereupon the color tone of the medium (3) changed from red to yellow in some of the cooking device (chopping board). Thus, the presence of Staphylococcus aureus was confirmed. The cooking device where the presence of Staphylococcus aureus was confirmed as such was wiped for several times with a gauze moisturized with a 0.2 to 0.5% aqueous chlorohexidine solution ("Hibiden" (trade name); manufactured by SUMITOMO PHARMACEUTICALS CO. LTD., Japan) followed by washing for ten minutes with tap water. The cooking device (chopping board) which was treated by cleaning with invert soap and washing with water as such was subjected to a test for detecting Staphylococcus aureus as same as above whereupon the color tone of the medium (3) was unchanged but was still in red.

The meant that no Staphylococcus aureus was detected. Thus, it was confirmed that Staphylococcus aureus could be effectively removed by the above-mentioned disinfecting treatment.

(Disinfecting/Sterilizing Treatment in the Used Apparatus for Detecting Staphylococcus aureus)

The second bag-shaped member (8) was broken by strongly compressing its cover (2) from outside using a compressing device (a "breaking device" in a broad clip-shaped one) (not shown) whereby a disinfectant/sterilizer (9) (a 5 to 10% aqueous solution of chlorohexidine (trade name: "Hibiden";



Substitute sheet - 27 August 1999

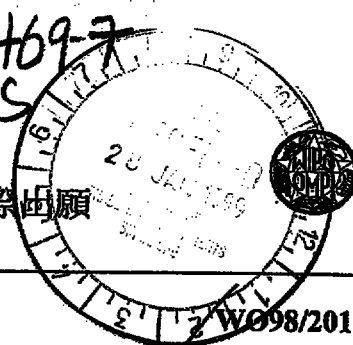
- 1 2 0 -

TABLE 12
Microorganism showing Positive Reaction and Color Change

Microorganism-Detecting Apparatus	Microorganisms showing Positive Reactions	Before Improvement		After Improvement	
		※Negative	Positive	※Negative	Positive
Kit for Detecting Staphylococcus	Staphylococcus aureus	red	(weak) orange	red	yellow
			(strong) yellow		
Kit for Detecting Salmonella	Others	pink	yellow	red	
	Salmonella	purple	black	blue	purple
	genera Citrobacter and Enterobacter	purple	yellow	blue	purple
	genera Klebsiella, Proteus and E. coli group	purple	yellow	blue	
Kit for Vibrio parahaemolyticus	Vibrio parahaemolyticus	bluish purple	yellowish green	purple	yellow
	genera Enterococcus and Serratia	bluish purple	yellow	purple	yellow
	Others				
	genera Klebsiella, Proteus and Citrobacter	bluish purple	yellow	purple	
Kit for Escherichia coli Group	Escherichia coli group	purple	yellow	green	yellow
	Others	purple	yellow or white (transparent)	green	

Others: refer to the above-mentioned test microorganisms ※Negative: the same color as before the test

PCT

世界知的所有権機関
国際事務局
特許協力条約に基づいて公開された国際出願9803469-7
IPAS

(51) 国際特許分類 C12M 1/28	A1	(11) 国際公開番号 (43) 国際公開日 1998年5月14日(14.05.98)
(21) 国際出願番号 PCT/JP97/04066 (22) 国際出願日 1997年11月7日(07.11.97) (30) 優先権データ 特願平8/309889 1996年11月7日(07.11.96) JP 特願平9/51119 1997年2月20日(20.02.97) JP 特願平9/156094 1997年5月30日(30.05.97) JP	高松厚志(TAKAMATSU, Atsushi)[JP/JP] 〒190 東京都立川市曙町2丁目41番19号 株式会社 エスアールエル内 Tokyo, (JP) (74) 代理人 弁理士 水野昭宣(MIZUNO, Akinobu) 〒150 東京都渋谷区渋谷1丁目10番7号 グローリア宮益坂III305 Tokyo, (JP)	(81) 指定国 AU, CN, KR, SG, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). 添付公開書類 国際調査報告書
(54) Title: BACTERIUM DETECTOR		
(54) 発明の名称 菌検出器具		
(57) Abstract		
A bacterium detector with which food-poisoning bacteria can be detected and identified through a simple procedure, and which can be treated so as to be safely discarded without fail. The detector is characterized by having at least (a) a vessel (1) in which a medium for use in culturing a bacterium to be detected is held during the culture, (b) a bacterium-collecting part (6), (c) a means (3) for keeping the medium out of contact with the bacterium-collecting part until the culture, and (d) a means (9) for sterilizing the medium after the culture. The detector is portable and makes it possible to selectively culture and detect bacteria, especially food-poisoning bacteria, etc. without requiring skill. The detector, which may contain pathogenic bacteria such as food-poisoning bacteria, can be safely discarded without fail.		

(57) 要約

簡便な操作で食中毒菌を検出・同定すると共に安全でかつ確実に廃棄する事ができるように処理可能な菌検出器具を提供する。該菌検出器具は、

(a) 検出すべき菌を培養するために使用される培地を菌培養の間保持するための容器1、

(b) 菌採取部6、

(c) 検出すべき菌を培養するために使用される培地を菌の培養時まで菌採取部と非接触的に収容することを可能にする手段3、及び

(d) 培養後の培地を消毒する手段9

を少なくとも有することを特徴とし、携帯性があり、熟練を要すること無く、菌、特には食中毒菌などを選択的に培養検知可能であるばかりでなく、安全・確実に食中毒菌などの病原性菌を含む検出器具を廃棄処分に付することを可能にする。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード (参考情報)

AL	アルバニア	FI	フィンランド	LT	リトアニア	SN	セネガル
AM	アルメニア	FR	フランス	LU	ルクセンブルグ	SZ	スワジランド
AT	オーストリア	GB	イギリス	LV	ラトヴィア	TD	チャド
AZ	アゼルバイジャン	GE	グルジア	MC	モナコ	TG	トーゴ
BA	ボスニア・ヘルツェゴビナ	GH	ガーナ	MD	モルドヴァ	TJ	タジキスタン
BB	バルバドス	GM	ギニア	MG	マダガスカル	TM	トルクメニスタン
BE	ベルギー	GN	ギニア・ビサウ	MK	マケドニア旧ユーゴスラヴィア共和国	TR	トルコ
BG	ブルガリア	GW	ギニア・ビサウ	ML	マリ	TT	トリニダード・トバゴ
BJ	ベナン	GR	ギリシャ	MN	モンゴル	UA	ウクライナ
BR	ブラジル	HU	ハンガリー	MR	モーリタニア	UG	ウガンダ
BY	ベラルーシ	ID	インドネシア	MW	モザンビーク	US	米国
CA	カナダ	IE	アイルランド	MX	メキシコ	UZ	ウズベキスタン
CC	中央アフリカ共和国	IL	イスラエル	NE	ニジェール	VN	ヴェトナム
CG	コンゴ共和国	IS	アイスランド	NL	オランダ	YU	ユーゴスラヴィア
CH	スイス	IT	イタリア	NO	ノルウェー	ZW	ジンバブエ
CI	コートジボワール	JP	日本	NZ	ニュージーランド		
CM	カメルーン	KE	ケニア	PL	ポーランド		
CN	中国	KG	キルギス	PT	ポルトガル		
CU	キューバ	KR	韓国	RO	ルーマニア		
CY	キプロス	KZ	カザフスタン	RU	ロシア		
DE	ドイツ	LC	セントルシア	SD	スーダン		
DK	デンマーク	LI	リヒテンシュタイン	SG	シンガポール		
EE	エストニア	LR	リベリア	SI	スロベニア		
		LS	レソト	SK	スロバキア		
				SL	シエラ・レオネ		