

表5 サルモネラコロバ結果集計

	サルモネラ 判定	一致率	
非接種群	陰性	84/84	
硫化水素産生株 低菌数	O4	83/84	1/84非接種群に 判定
硫化水素産生株 高菌数	O4	84/84	
硫化水素非産生株 低菌数	O1,3,19	84/84	
硫化水素非産生株 高菌数	O1,3,19	84/84	

## 資料1 一斉検査表実験手順

実験手順 (一斉検査用)

H19. 8. 22

QA ボールが10個、1パックで冷蔵郵送される。

届き次第中身のパックを冷凍庫に保存してください。(QA ボールは本来冷凍品です。) 中身は5個パックのサルモネラ(30cfu *Salmonella* Typhimurium/1パック)と5個パックの大腸菌群(30cfu *Enterobacter aerogenes*/1パック)です。ランダムに入っています。

コマ切りにされたロースハム 25g 入りストマフィルターが12袋冷蔵(2袋は余分)で送られてきます。(宅急便予定) 冷蔵庫保存をお願いいたします。このハム検体と一緒に温度管理用センサーや試薬等を一緒に配布予定です。温度管理センサーは培養時に一緒に庫内に入れてください。

### 1日目

QA コントロールのボール入りガラス容器に、滅菌精製水を1ml加えて、均一にする。(クリーンベンチ内で行っていただければ、無菌操作は必要ないと考えている。)

均一になった液から0.1mlを無菌操作で取り出し、検体に接種する。1袋に1個のQAボールから作成した0.1mlを接種すること。10検体、それぞれの菌液0.1mlを接種する。

1袋に225ml BPWを加え(加えるときに、培養温度に近い温度に温めておくこと!!)、ストマッキングを1分間行い、 $35\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、 $22\pm 2$ 時間で培養する。

### 2日目

RVとTTの培養液にBPW培養した液をそれぞれ、0.1mlと1.0ml加える。RVとTTはBPW培養液を加えるときには、 $40^{\circ}\text{C}$ 程度に温めておく。この選択培養温度と時間は $42\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 、 $22\pm 2$ 時間培養する。

RVは加温溶解後に10mlずつ分注し、 $115^{\circ}\text{C}$ 、15分間高压滅菌する。作成後冷蔵庫で1ヶ月保存可能

TT基礎培地は作成後数週間は冷蔵庫で保存可能であるが、ヨウ素溶液添加後には作成当日に使用のこと。

TT培地の作成法：TT基礎培地を加熱溶解後、 $40^{\circ}\text{C}$ 以下に冷却する。ヨウ素溶液20mlをTT培地1Lに加え、良く攪拌する。さらにかきまぜながら、10mlずつ滅菌試験管に分注する。

#### ヨウ素溶液の作成法

ヨウ化カリウム 5g

ヨウ素           6g  
精製水           20ml

- ① 5gのヨウ化カリウムを20mlの蒸留水に乳鉢等でつぶしながら溶かす。
- ② 6gのヨウ素をつぶしながら溶かす。
- ③ 褐色のガラス瓶に保存。

BGS寒天培地の作成方法：ジメチルホルムアミド2mlにスルファピリジン1gを加えて溶解する。70℃以上に保った高圧蒸気滅菌したBGA(1L)培地にこの溶液を添加し、混和する。培地の温度が60℃以下の時にスルファピリジン溶液を添加すると結晶析出する場合があるので注意する。スルファピリジン添加培地を60℃前後に冷却して平板を作製する。

3日目 RVとTTの培養液を4種類の寒天培地(MLCB, XLD, CHS\*とBGS)に10μlエーゼで塗抹後、35±1℃、22±2時間で培養する。集落が分離しやすいような塗抹でお願いします(コロニーアイソレーション法等)。

4日目 サルモネラと疑われる集落があれば、1寒天培地で3個分離し、TSIとLIM(あるいはSIMも可)にてサルモネラの確認を行った後でO多価あるいはO4での凝集反応によりサルモネラ確認を行って検査結果を出す。

検査結果表

検体番号	PCR	RV-H2S 検出	RV-nonH2S	TT-H2S 検出	TT-nonH2S
		MLCB	CHS	MLCB	CHS
		XLD	BGS	XLD	BGS
		MLCB	CHS	MLCB	CHS
		XLD	BGS	XLD	BGS
		MLCB	CHS	MLCB	CHS
		XLD	BGS	XLD	BGS
		MLCB	CHS	MLCB	CHS
		XLD	BGS	XLD	BGS
		MLCB	CHS	MLCB	CHS
		XLD	BGS	XLD	BGS
		MLCB	CHS	MLCB	CHS
		XLD	BGS	XLD	BGS
		MLCB	CHS	MLCB	CHS
		XLD	BGS	XLD	BGS
		MLCB	CHS	MLCB	CHS

		XLD	BGS	XLD	BGS
		MLCB	CHS	MLCB	CHS
		XLD	BGS	XLD	BGS
		MLCB	CHS	MLCB	CHS
		XLD	BGS	XLD	BGS

\*CHS: クロモアガーサルモネラ

結果表には、2つの培地のそれぞれ X/3 (X はサルモネラと確認された集落数) と記してください。(例: MLCB 3/3, XLD 3/3) (例: CHS 3/3, BGS 3/3)

結果はメールで宮原まで送って下さい。また、温度管理用システム (カード状のもの) は一緒に送られてくる封筒に入れて、実験終了後に宮原まで送って下さい。よろしくお願いいたします。E-mail: [miyahara@nihs.go.jp](mailto:miyahara@nihs.go.jp) 住所: 〒158-8501 世田谷区上用賀 1-18-1 国立医薬品食品衛生研究所・衛生微生物部 宮原美知子まで。

尚、送られてくるものリストは以下の通りです。

ストマフィルター (25g スライスハムミンチ入り) 12 袋

QA ボール 10 個 (ガラス小瓶入り・番号表示有り)

Buffered Peptone Water

RV

TT

MLCB 寒天培地 (日水 300g)

XLD

CHROMagar *Salmonella* (粉末培地の予定)

BGA

Sulfapyridine

O 多価血清

O4 血清

温度管理用システム (3 M TL20 Temperature logger)

温度管理用システム返送用封筒

## 資料2 サルモネラコラボ プロトコール (平成20年1月実施予定)

検体 豚挽肉 25g 入りストマフィルター 30 袋  
添加菌 H<sub>2</sub>S 産生サルモネラ 高濃度群 N=6、低濃度群 N=6、H<sub>2</sub>S 非産生サルモネラ 高濃度群 N=6、低濃度群 N=6、サルモネラ非接種群  
増菌培地 Buffered Peptone Water(BPW)  
Rappaport-Vassiliadis (RV)培地  
Tetrathionate (TT)培地  
分離培地 硫化水素の産生により判定する培地: MLCB  
硫化水素非産生であってもサルモネラと判定できる培地: BGS(ブリリアントグリーン+スルファピリジン)  
サルモネラ血清 O 多価血清、O4 血清と O1, 3, 19 血清使用  
温度管理用システム 3M TL20 Temperature logger

1月18日(金)までに送られてくるもの

BPW 培地

RV 培地

TT 培地

ヨウ化カリウム

ヨウ素

MLCB 寒天培地 100 枚 (生培地) 到着後冷蔵保存のこと

BGS 生培地 100 枚 到着後冷蔵保存のこと

TSI

LIM

O 多価血清

O4 血清

O1, 3, 19 血清

平成20年1月21日(月)

1. 輸送用 10L 缶で食品 25g 入りストマフィルターが 30 袋と温度管理センサー(返送用封筒入り)が冷蔵郵送される。実験開始まで冷蔵保存する。(だいたいの機関には1月21日午前中に届く予定になっておりますが、広島市は1月21日(月)午後2:00~5:00、北海道は1月22日(火)に届く予定になっております。御了承下さい。北海道については、1日開始日が遅れることとなりますが、冷蔵品ですので、問題はございません。届き次第試験をお願いいたします。)
2. 1袋に 225mL の BPW を加え、ストマッキングを1分間行い、35±1℃、22±2 時間培養する。温度管理センサーも一緒に孵卵器に入れる。

(ア) BPW は 35℃ 付近の温度に温めておく。BPW は当日調製または、前日調製冷蔵庫保存でも可能。

1月22日(火)

BPW 培養液 0.1mL を RV 培地 10mL に、また 1.0mL を TT 培地 10mL に接種し、42±0.5℃、22±2 時間培養する。温度管理センサーも一緒に孵卵器に入れる。

\* RV と TT はあらかじめ 40℃ 程度に温めておく。

\* 参考まで

#### TT 培地の作り方

TT USA (OXOID CM0671) 本培地 46g を 1 L の精製水に懸濁し、沸騰するまで加熱する。45℃ 以下に放冷する。(この状態で、数週間冷蔵することは可能です。) 下記に示すヨード液 20ml を使用直前に添加する。良く混合しながら、無菌試験管に 10ml ずつ分注する。

#### ヨード液の作り方

ヨウ化カリウム 5g を乳鉢中等でつぶしながら、20ml の蒸留水を加える。次に 6g のヨウ素をつぶしながら混ぜ合わせる。(この通りの順序で加えること!) 褐色のガラス瓶に保存する。

#### RV 培地の作り方

RV(OXOID CM0669) 本培地 30g を 1 L の精製水に加える。良く溶解後に 10ml ずつ分注し、115℃ で 15 分間高圧滅菌する。冷却後、1 ヶ月保存可能です。

1月23日(水)

RV と TT の培養液を 2 種類の寒天培地 (MLCB、BGS) に 10μL エーゼで画線塗抹後、35±1℃、22±2 時間培養する。温度管理センサーも一緒に孵卵器に入れる。

1月24日(木)

各分離平板培地に発育・増殖した定型的と思われる集落を 3 個ずつ釣菌して、Triple Sugar Iron (TSI) 培地と Lysine Indole Motility (LIM) 培地等に接種し、35±1℃、22±2 時間培養する。温度管理センサーも一緒に孵卵器に入れる。

なお、定型的サルモネラ集落とは、MLCB で黒色、BGS では無色透明の集落を形成し、周囲の培地色を赤変させるものです。(添付ファイルの写真を参照してください。) 今回の検討では、硫化水素非産生のサルモネラが接種されたものもありますので、定型的でないサルモネラも入っています。MLCB では、黒くならない集落、BGS では、無色透明の集落を形成し、周囲の培地色を赤変させるものです。ご注意ください。

1月25日(金)

TSI 培地にあつては高層部黄変・黒変・ガス産生(高層部における気泡または亀裂の発生)

および斜面部が赤変したものを、LIM 培地にあつては培地全体が紫変、インドール陰性、運動性陽性のものを定型的なサルモネラと判定する。BGS でのみ釣菌された集落については、TSI 培地での様相は異なる。

どちらの集落についても血清学的試験 O 多価と O1 多価血清での凝集試験を行い、さらに O 抗原血清型について決定し、それらの結果によって非定型的なものも含めて、サルモネラの確認とする。

\*今回は H<sub>2</sub>S 非産生株が接種されているものがあるので、TSI においては、この非産生株は高層部の黒変は見られませんのでご注意ください。

結果表には、2つの培地のそれぞれ X/3 (Xはサルモネラと確認された集落数)と記す。(例: MLCB 3/3, BGS 3/3) また、サルモネラと思われる集落数が1個や2個であつてサルモネラと確認された場合には(例: MLCB 1/1, BGS 1/2)等、記入してください。サルモネラと思われる集落がない場合には0と記入してください。また、検出したO血清型についても記載をお願いいたします。

検査結果については [saikinkensa@nihs.go.jp](mailto:saikinkensa@nihs.go.jp) に結果をメールでお願いいたします。

また、温度管理用システム (カード状のもの) は一緒に送られてくる封筒に入れて、実験終了後に宮原まで送って下さい。終了後早めに送っていただけると助かります。

封筒には返送先を記入しておく予定です。

住所: 〒158-8501 世田谷区上用賀 1-18-1 国立医薬品食品衛生研究所

衛生微生物部 宮原美知子

#### 参考まで

BGS 寒天培地の作成方法: ジメチルホルムアミド 2mL にスルファピリジン 1g を加えて溶解する。70℃以上に保った高圧蒸気滅菌した BGA (1L) 培地にこの溶液を添加し、混和する。培地の温度が 60℃以下の時にスルファピリジン溶液を添加すると結晶析出する場合があるので注意する。スルファピリジン添加培地を 60℃前後に冷却して平板を作製する。ただし、この分離寒天平板は生培地で送る予定。1月の中旬までに送る予定。

検査結果 (このままの表でも、Excel に直されても結構です。)

検査結果表 例 3/3, O4

#	RV-MLCB	RV-BGS	TT-MLCB	TT-BGS


検査結果については [saikinkensa@nihs.go.jp](mailto:saikinkensa@nihs.go.jp) に結果をメールでお願いいたします。

尚、不明な点については国立医薬品食品衛生研究所衛生微生物部 宮原美知子  
[miyahara@nihs.go.jp](mailto:miyahara@nihs.go.jp)、TEL: 03-3700-1141 (548) あるいは  
大阪公衆衛生研究所 感染症部 細菌課 田口真澄  
[mstguch@iph.pref.osaka.jp](mailto:mstguch@iph.pref.osaka.jp)、TEL: 06-6972-1321 に連絡をお願いいたします。



サルモネラ試験法 コラボスタディ実行案  
Enumeration of Salmonella Standard Test Method

## 目次

1. コラボ試験の目的
2. 参考引用規格
3. 実施予定試験所数
4. 試験方法
5. 試験検体
6. 標準菌株
7. 菌接種検体の調製
8. 検査前の検体の保存
9. 検体の輸送
10. 検査
11. 試験検体の処理方法
12. 結果の提示
13. 統計

別添 サルモネラ標準試験法

1.     **コラボ試験の目的**  
食品の国際間交流が進んでいる中で、国際的に互換性のある試験を行うことは重要であり、このような観点から日本の食品における微生物試験法の見直しを行い、信頼性の高い試験法について検討を行ってきた。日本における食中毒起因細菌の一つであるサルモネラについて標準試験法案について検証を行うことを目的とする。本試験において、以下の再現性を確認することを目的とする。
  - ①室内再現性 (Repeatability)
  - ②室間再現性 (Reproducibility)
  
2.     **参考引用規格**  
国際的に通用する検証を実施するために、コラボの国際規格である ISO16140 に準拠し、また、ISO の考え方を取り入れている AOAC 法のコラボレートスタディーの実施例を参照し実行する。
  
3.     **実施予定試験所数**  
10ヶ所で実施予定
  
4.     **試験方法**  
具体的に培地名を明確化し、それぞれの培地に対して検証を行い、妥当性を検証する。
  
5.     **試験検体**  
本試験において、SIC コードに基づき、どのカテゴリーに対して検証するか決定する。  
サルモネラの危害の可能性の高い食材を用いて試験を行う。食品検体は食肉製品の1種類の食品につき行う。
  
6.     **標準菌株**  
本試験では、2種類の菌株を使用する。
  
7.     **菌接種試料の調製**  
スパイクによる二段階の菌量レベルを検討する。菌液濃度は
  - ①1-10 CFU/25g×6 サンプル
  - ②11-100 CFU/25g×6 サンプル
  - ③非スパイク試料×6 サンプル

8. 試料の輸送  
アイスパックで7℃以下に保って輸送し、各試験室に到着後は2－8℃で保存（温度記録をとる）
9. 試験前の試料の保存  
冷蔵による。2－3日（温度記録をとる）
10. 試験  
希釈段階：定性であるので、必要なし  
培養条件：プロトコール条件による（温度記録をとること）  
確定試験：サルモネラと思われる集落について確定試験を行う。
11. 試験試料の処理方法
  - ①試料の包装の表面をアルコール綿で拭く。
  - ②滅菌したピンセットとハサミを用い、包装を切り開く。
  - ③試料 25g をストマッカー袋に入れる。
  - ④BPW225ml を加え、1 分間ストマッキングして、10 倍乳剤とする。  
注：ストマッカー袋で配布予定のため、①～③は省略)
12. 結果の提示  
試験結果は、+または-で表示し、生データを解析担当者に提出する。
13. 統計  
全ての生データを、解析担当者が集め、統計解析を行う。

## 1. 試験の概要

試料 25g を、BPW225ml で均質化し培養する。その一部を RV および TT 培地にて選択増菌培養後、2 種類の分離寒天平板培地（硫化水素産生株を検出する培地と硫化水素産生株または非産生株であっても検出できる培地をそれぞれ 1 種類）で培養し、集落を形成させる。サルモネラと疑われる集落を分離し、TSI と LIM にて生化学性状の確認を行い、O 多価あるいは O1 多価の凝集反応によりサルモネラ属菌と同定する。

## 2. 使用器具、装置

- ①滅菌ハサミ
- ②滅菌ピンセット
- ③濾過装置
- ④フィルター
- ⑤ストマッカー
- ⑥ストマッキング袋
- ⑦三角フラスコ
- ⑧自動秤量分注装置（天びんとして使用）
- ⑨ pH 計
- ⑩滅菌メスピペットまたはマイクロピペットと滅菌チップ
- ⑪メスシリンダー
- ⑫小試験管
- ⑬中試験管
- ⑭試験管たて
- ⑮白金耳および白金線
- ⑯高圧蒸気滅菌器（滅菌のインジケーター）
- ⑰乾熱滅菌器（滅菌のインジケーター）
- ⑱恒温槽または恒温水層（ $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  と  $42^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ）
- ⑲滅菌シャーレ

## 3. 培地、試薬および抗血清

- ①前増菌用培地  
緩衝ペプトン水（BPW）：加温溶解後、 $121^{\circ}\text{C}$  で 15 分間滅菌する。
- ②選択増菌用培地

Rappaport-Vassiliadis (RV)培地：加温溶解後、10ml ずつ中試験管に分注し、115℃で 15 分間滅菌する。作成後冷蔵庫で数週間保存可能。  
Tetrathionate (TT)培地：加温溶解後、40℃以下に冷却する。ヨウ素溶液 20ml を培地 1 L に加え、良く攪拌する。さらにかきまぜながら、10ml ずつ滅菌中試験管に分注する。TT 基礎培地は作成後 1 ヶ月間、冷蔵庫で保存可能であるが、ヨウ素溶液添加後には作成当日に使用のこと。

### ③分離寒天平板培地

硫化水素の産生により判定する培地：MLCB、DHL と XLD から 1 種類。使用説明書に従って作製

硫化水素非産生であってもサルモネラと判定できる培地：ES II (ES サルモネラ寒天培地 II)、BGS(ブリリアントグリーン+スルファピリジン)、CHS(クロモアガーサルモネラ)、SMIDII から 1 種類。使用説明書に従って作製

### ④確認用培地

TSI (Triple Sugar Iron) 寒天培地：加温溶解後、小試験管に分注、121℃で 15 分間滅菌し、高層斜面とする。

LIM (Lysine Indole Motility) 培地：加温溶解後、小試験管に分注、121℃で 15 分間滅菌する。高層に固める。

### ⑤生化学的性状確認培地と試薬等

シモンズクエン酸ナトリウム培地：加温溶解後、小試験管に分注、121℃で 15 分間滅菌し、高層斜面とする。

VP 半流動培地：加温溶解後、小試験管に分注、121℃で 15 分間滅菌する。

インドール試薬

VP 用試薬 A (6%アルファナフトール・エタノール溶液)、B (0.3%クレアチン加 40%水酸化カリウム水溶液)

チトクロームオキシダーゼ試験用ろ紙

### ⑥O 血清型確認血清

サルモネラ免疫血清 O 群

#### 4. 試験手順

##### 1) 前増菌培養

- ①緩衝ペプトン水 (BPW)を約 35℃となるよう温めておく。
- ②試料 25g に BPW 225ml を加え、1 分間ストマッカー処理する。
- ③35±1℃・22±2 時間前増菌培養する。

##### 2) 選択増菌培養

- ①RV 培地および TT 培地を約 42℃となるように温めておく。
- ②BPW で前培養した培養液 0.1ml を Rappaport-Vassiliadis (RV)培地 10ml に接種する
- ③BPW で前培養した培養液 1.0ml を Tetrathionate (TT)培地 10ml に接種する
- ④RV 培地および TT 培地を 42±0.5℃・22±2 時間培養する。

##### 3) 分離用寒天培地培養

- ①培養後の RV 培地および TT 培地をよく攪拌する。
- ②1 白金耳量を、以下の (ア) 硫化水素の産生により判定する培地および (イ) 硫化水素非産生であってもサルモネラと判定できる培地のグループからそれぞれ 1 種類を選び、それぞれの分離平板培地に画線塗抹する。

(ア) 硫化水素の産生により判定する培地 (1 種類選択)

- ① MLCB
- ② DHL
- ③ XLD

(イ) 硫化水素非産生であってもサルモネラと判定できる培地 (1 種類選択)

- ① ES II (ES サルモネラ寒天培地 II)
- ② BGS(ブリリアントグリーン+スルファピリジン)
- ③ CHS(クロモアガーサルモネラ)
- ④ SMIDII

- ③接種した培地を 35±1℃・22±2 時間培養する。

注意：集落の色については、硫化水素産生により判定する培地では黒色集落がサルモネラであり、ES サルモネラ II では、ピンク、BGS では無色透明、クロモアガールサルモネラでは藤色、SMIDII ではピンクが

サルモネラである。実際の分離寒天平板上でのサルモネラ集落の色についてはサルモネラ標準株（菌株を示す予定）にて検証後に検査に使用すること。

#### 4) 確認培養

- ①各分離平板培地に形成された定型的集落（各培地の判定方法を参照）を3個ずつ釣菌して、TSI 培地と LIM 培地に接種する。
- ②TSI には白金線で斜面に塗抹と同時に高層に穿刺する。
- ③LIM は高層に穿刺する。
- ④接種した培地は、 $35 \pm 1^{\circ}\text{C} \cdot 22 \pm 2$  時間培養する。
- ⑤培養後、以下の結果が得られたものをサルモネラと判定する。
  - (ア) TSI 培地：高層部黄変・黒変・ガス産生（高層部における気泡または亀裂の発生）および斜面部が赤変したもの
  - (イ) LIM 培地では、培地全体が紫変（リシン陽性）、インドール反応陰性、運動性陽性のもの
- ⑥TSI 培地、LIM 培地において上記定型的な性状と一部異なる性状を示す（非定型的）サルモネラが疑われる場合は、次の5) に示す生化学性状試験を行う。

注意：インドール試験：LIM にインドール試薬を滴下、加えた試薬が赤色に変化すれば陽性とするが、サルモネラではインドール陰性であり試薬の色の変化はない。
- ⑦サルモネラと判定したものは、次の6) に示す血清学的試験を行い、O 抗原血清型について決定する。

#### 5) 生化学的性状

- ①上記の非定型的サルモネラが疑われるときは（ア）～（ウ）に示した生化学的性状を実施する。同定キットの使用も可。
  - (ア) オキシダーゼ試験：チトクロームオキシダーゼ試験用ろ紙に菌を塗布して1分以内に深青色になれば陽性とする。
  - (イ) クエン酸：シモンズクエン酸ナトリウム培地に菌を塗抹後、 $35 \pm 1^{\circ}\text{C} \cdot 22 \pm 2$  時間培養する。培地が深青色になれば陽性とする。
  - (ウ) VP: VP 半流動培地に菌を穿刺し、 $35 \pm 1^{\circ}\text{C} \cdot 22 \pm 2$  時間培養後、VP 用試薬 A、B を滴下する。陽性の時は数分後に試薬が赤色となる。1時間後も赤色とならなければ陰性とする。

注意：サルモネラはオキシダーゼ 陰性、クエン酸 陽性、VP 陰性である。



## 6) 血清型別

①サルモネラの性状を示した菌株についてはサルモネラ免疫血清を用いたスライド凝集法による O 血清型別試験を TSI 斜面上から菌を採取して実施する。

(ア) O 多価血清と O1 多価血清を用いての凝集試験を行い、凝集が見られたら O 群血清を用いて当該菌の O 群を決定する。

(イ) サルモネラの定型的な生化学性状が一致したのかかわらず、いずれの血清にも凝集が見られないときは O 群型別不能とする。

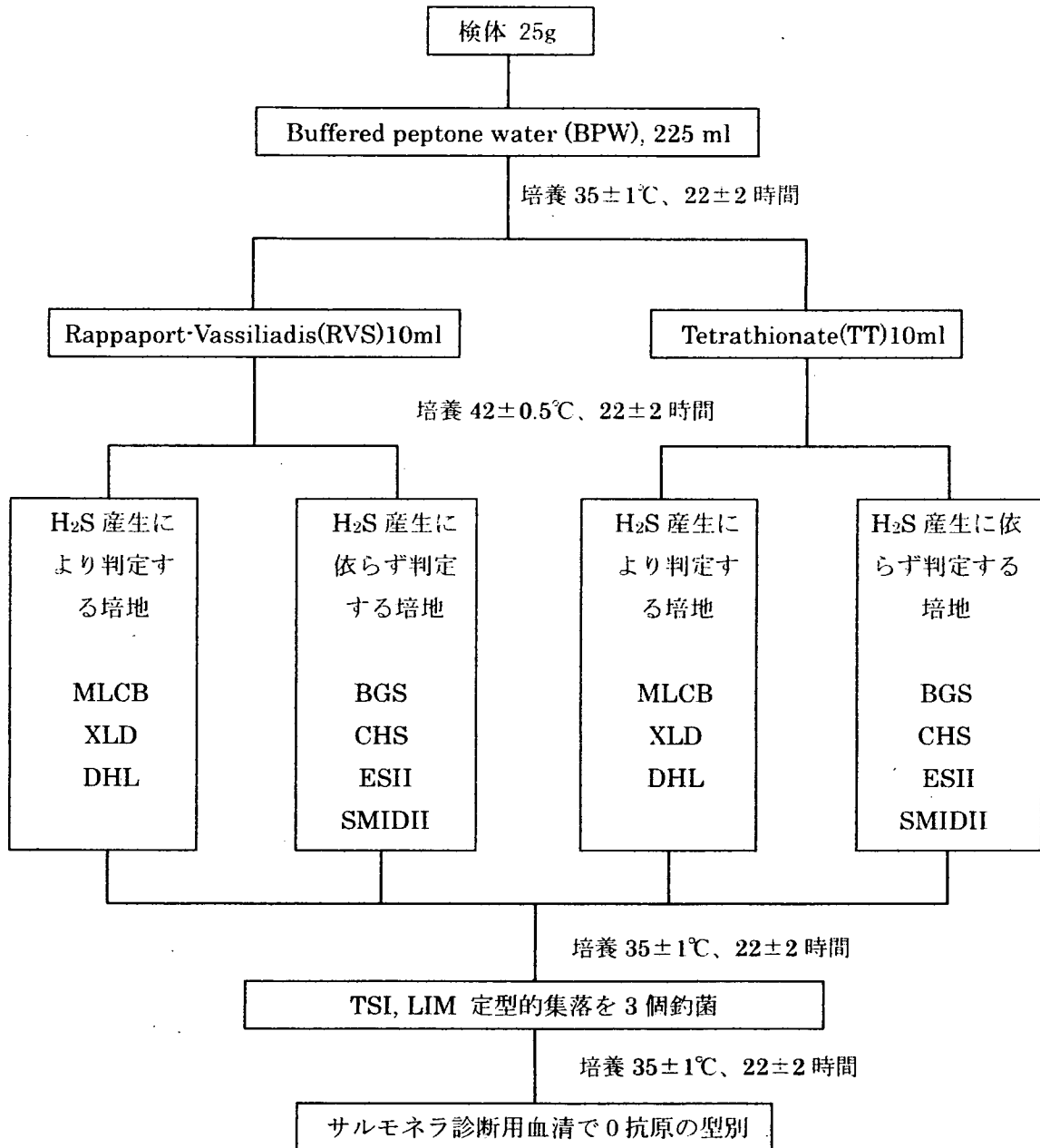
## 7) 記載

①サルモネラ陽性のときは O 群または O 群型別不能まで記載する。

②非定型的サルモネラの時も同様に O 群まで記載するとともに、どの生化学的性状が異なっていたかも記入する。

5. フローチャート

(この検査法は *Salmonella Typhi* と *Salmonella Paratyphi A* には適用不可である.)



## 6. 希釈液および培地組成および使用方法

以下、培地組成等は、作成中

## 資料 4 コラボ参考結果

検体名：豚挽肉（サルモネラ陰性確認）

接種菌

硫化水素産生サルモネラ *S. Typhimurium* (O4)

硫化水素非産生サルモネラ *S. Senftenberg* (O1,3,19)

接種菌数検証（25 g あたり）

硫化水素産生菌株 低菌数

8, 6, 4, 6, 4, 6, 3, 4, 3, 5 平均 4.9

硫化水素産生菌株 高菌数

29, 32, 36, 41, 37, 36, 30, 37, 42, 46 平均 36.6

硫化水素非産生菌株 低菌数

1, 3, 6, 2, 6, 2, 9, 12, 8, 7 平均 5.6

硫化水素非産生菌株 高菌数

57, 66, 48, 57, 47, 59, 46, 61, 60, 56 平均 55.7

豚挽肉の生菌数（6 試料）

235.5, 436, 457, 497, 411, 652  $5.4 \times 10^5$  cfu/g