

令和2年度 厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）

食品衛生検査施設等の検査の信頼性確保に関する研究

研究分担報告書

外部精度管理調査プログラム用適正試料の改善と開発に関する研究

－微生物調査試料添加菌濃度の低減に関する検討(4)－

研究代表者	渡辺 卓穂	(一財) 食品薬品安全センター秦野研究所 部長
研究分担者	渡辺 卓穂	(一財) 食品薬品安全センター秦野研究所 部長
研究協力者	高坂 典子	(一財) 食品薬品安全センター秦野研究所 室長
	梶原 三智香	(一財) 食品薬品安全センター秦野研究所 研究員
	中阪 聡亮	(一財) 食品薬品安全センター秦野研究所 研究員
	堀田 実和	(一財) 食品薬品安全センター秦野研究所 研究員

研究要旨

食品衛生外部精度管理調査、微生物学調査では、これまで運用してきたE. coli検査、腸内細菌科菌群検査、サルモネラ属菌検査および大腸菌群検査の4項目の調査試料における再開発を行った。

外部精度管理事業の品質向上を目指すため、添加する微生物の濃度を「食品、添加物等の規格基準（昭和34年厚生省告示第370号、以下「公定法」という）に記載された成分規格に近い濃度まで低減した調査試料の開発を実施した。

調査試料に求める条件は、①公定法の試験操作で陽性・陰性の判定が可能であること、②実際の食品検査に近いマトリクスの基材で冷蔵保存が可能であること、③冷蔵保存で微生物の添加から14日以上安定性が認められること（添加直後と添加14日後の差が対数値で±1.0ポイント以内）、④冷蔵から22.5℃（常温）に移管後も生菌数が測定可能であること（輸送時の温度上昇で急激に菌数が低下しない）、の4条件とした。

E. coli検査、腸内細菌科菌群検査、サルモネラ属菌検査の調査試料開発では、調査試料作製手順および採用微生物はそのままに、添加菌液の濃度を従来の1/100にした（n=1）。調査試料は約1か月間の生菌数の挙動と、添加直後および約1か月後の定性試験（公定法）の確認を実施した。この結果、全ての調査試料で全ての条件をクリアし、調査試料としての妥当性が認められた。

大腸菌群検査の調査試料開発では、調査試料作製手順はそのままに、微生物は従来の2菌種および新規4菌種を加え、添加菌液の濃度を従来の1/100にした（n=3）。調査試料は約1か月間の生菌数の挙動と、添加直後および約1か月後の定性試験（公定法）の確認を実施した。この結果、1菌種を除いた5菌種を添加した調査試料で全ての条件をクリアし、調査試料としての妥当性が認められた。

A. 研究目的

食品衛生管理の外部精度管理事業において、現在当財団で実施している微生物学区分の調査項目では、各検査項目の食品成分規格を大きく超過する生菌数の調査試料を作製している。

これは国内各地へ冷蔵輸送する過程で微生物が死滅することを避けるためであるが、一方で技能試験の調査試料として最適とは言えず、将来的に本来の成分規格に近い濃度の調査試料を提供することが求められる。

本研究では、添加する微生物の濃度を従来の1/100程度に抑え、従来の作製手順を踏襲した調査試料を作製し、この調査試料の生菌数の挙動および定性試験（公定法）を実施することで技能試験の品質への影響を検証することを目的とした。

B. 方法

1. 試料基材および添加菌

1) E. coli検査

試料基材はハンバーグ（市販品）、添加菌は*Escherichia coli* HIC 190367（陽性）、*Acinetobacter calcoaceticus* HIC 190366（陰性）を用いた。

2) 腸内細菌科菌群検査

試料基材はハンバーグ（市販品）、添加菌は*Escherichia coli* HIC 190367（陽性）、*Pseudomonas aeruginosa* HIC 190371（陰性）を用いた。

3) サルモネラ属菌検査

試料基材は液卵、添加菌は*Salmonella* sp. HIC 190364（陽性）、

Proteus mirabilis HIC 190368（陰性）を用いた。

4) 大腸菌群検査

試料基材はハンバーグ（市販品）、添加菌は*Klebsiella oxytoca* HIC 190365（陽性）、*Acinetobacter calcoaceticus* HIC 190366（陰性）、*Citrobacter freundii* HIC 190378（陽性）、*Enterobacter cloacae* HIC 190379（陽性）、*Aeromonas hydrophila* HIC 190377（陰性）、*Enterococcus faecalis* HIC 190381（陰性）の6菌種を用いた。

5) 培地等

5-1) E. coli検査

- ・EC培地（日本製薬、日水製薬）
- ・EMB培地（日水製薬）
- ・乳糖ブイヨン培地（日水製薬）
- ・グラム染色液（日水製薬）

5-2) 腸内細菌科菌群検査

- ・EEブイヨン（OXOID）
- ・OF基礎培地（栄研化学）
- ・チトクローム・オキシダーゼ試験用ろ紙（日水製薬）

5-3) サルモネラ属菌検査

- ・ラパポートバシリアジス培地（日本製薬、OXOID）
- ・テトラチオネート培地（日水製薬）
- ・DHL寒天培地（日水製薬）
- ・XLDカンテン培地（日本製薬）
- ・MLCB寒天培地（日水製薬）
- ・ブリリアントグリーン寒天培地

(栄研化学)

- CHROMagar Salmonella (CHROMagar)
- ESサルモネラ寒天培地II (栄研化学)
- chromID Salmonella agar (バイオメリュール)

5-4) 大腸菌群

- BGLB培地 (日水製薬)
- EMB培地 (日水製薬)
- 乳糖ブイヨン培地 (日水製薬)
- グラム染色液 (日水製薬)

5-5) 共通試薬等

- 精製水 (日本薬局方) (小堺製薬)
- 緩衝ペプトン水 (BPW) (ISO組成) (日水製薬)
- 標準寒天培地 (日水製薬)
- SCD培地 (日本製薬)
- その他、培地指定の添加剤等

2. 使用機器

調査試料、培地等の滅菌にはオートクレーブを使用した。試験操作は安全キャビネットまたはクリーンベンチ内で行い、培養には恒温槽または恒温水槽を使用した。

3. 調査試料の作製

1) 基材の滅菌

1-1) ハンバーグ基材

ハンバーグを沸騰水で15分間煮沸して油脂を除去した。新たな沸騰水で再度同様に煮沸後、滅菌用の容器に挿入し、121°Cで75分間の高圧蒸気滅菌を

行った。

1-2) 液卵基材

NaCl : 38.25 g、Tween80 : 45.0 g、精製水 : 3150 mL、グリセリン : 450 gを十分に混和した後、高圧蒸気滅菌可能な樹脂製容器に80 mLずつ分注し、121°Cで30分間の高圧蒸気滅菌を行った。添加菌の添加当日に液卵20 mLを添加したものを液卵基材とした。

2) 添加菌の培養

添加菌は標準寒天培地で35.0°C、18-24時間培養し、SCD培地に1白金耳移植後35.0°C、18-24時間培養した。

3) 調査試料の作製

3-1) ハンバーグ基材

培養液1 mLをSCD培地99 mLに添加し、十分に混和して希釈培養液を作製した。希釈培養液全量をグリセリン加生食 (グリセリン : 100 g、NaCl : 9.0 g、精製水 : 800 mL) に添加し、十分に混和したものを添加菌液とした。添加菌液にハンバーグを浸漬し、滅菌済容器に挿入した。これを調査試料とした。

試験項目ごとに各菌6個作製し、大腸菌群検査用調査試料は異なる培養液で3セット (各菌6個×3セット) 作製した。

3-2) 液卵基材

培養液1 mLを生理食塩液99 mLに添加し、十分に混和して希釈培養液を作製した。希釈培養液10 mLを生理食塩

液90 mLに添加し、十分に混和したものを添加菌液とした。添加菌液1 mLを液卵基材に添加し、十分に混和したものを調査試料とした。

4) 調査試料の保管条件

調査試料の保管条件は①冷蔵保管（以下、「冷蔵試料」という）、②冷蔵保管10日後に22.5℃に移管（以下、「常温試料」という）の2条件とした（表1）。

4. 調査試料の品質評価

1) 試験溶液の作製

各調査試料は25 g秤量し、225 mLの緩衝ペプトン水（BPW）を添加後にストマッカーで1分間処理した懸濁液を試験溶液とした。

2) 生菌数測定

冷蔵試料は添加直後、10、14（または15）および28（または29）日後の4回、生菌数測定を実施した。

また常温試料は添加14（または15）および28（または29）日後の2回、生菌数測定を実施した。

試験溶液1 mLをBPW 9 mLで段階希釈し、各希釈液1 mLを標準寒天培地で混積平板培地にした（n=2）。これを35.0℃、18時間以上培養し、発育集落を計測して生菌数を算出した。

3) 定性試験

冷蔵試料は添加直後および28（または29）日後の2回、常温試料は28（または29）日後の1回実施した。

各試験操作は後述のとおり実施した。

3-1) E. coli検査、サルモネラ属菌検査、大腸菌検査

試験操作は「食品、添加物等の規格基準に定めるサルモネラ属菌及び黄色ブドウ球菌の試験法の改正について」（平成27年7月29日、食安発0729第4号）に従った（図1から3）。

3-2) 腸内細菌科菌群

試験操作は「生食用食肉の腸内細菌科菌群の試験法について」（平成23年9月26日、食安発0926第1号）に従った（図4）。

C. D. 研究結果および考察

1. E. coli 検査

1) 生菌数の挙動

E. coli検査調査試料の生菌数の挙動は図5および表2に示したとおりであった。

E. coli（陽性）、*A. calcoaceticus*（陰性）ともに冷蔵試料では添加直後から15日後以降の長期間において対数値1.0ポイント以内の減少傾向を示したことから、非常に安定な調査試料であることが示された。また常温試料では陽性、陰性試料ともに添加15日後の生菌数測定が可能であったことから、輸送時の温度上昇が起きても急激な菌数低下を認めない試料であることが示された。

2) 定性試験

*E. coli*検査調査試料の定性試験の結果は表8に示したとおりであった。

冷蔵試料、常温試料ともに添加直後、添加29日後のどちらにおいても正しく判定が可能であったことから、定性試験への影響は無いと判断した。

2. 腸内細菌菌群検査

1) 生菌数の挙動

腸内細菌科菌群検査調査試料の生菌数の挙動は図6および表3に示したとおりであった。

E. coli (陽性)、*P. aeruginosa* (陰性)ともに冷蔵試料では添加直後から15日後以降の長期間において対数値1.0ポイント以内の減少傾向を示したことから、非常に安定な調査試料であることが示された。また常温試料では陽性、陰性試料ともに添加15日後の生菌数測定が可能であったことから、輸送時の温度上昇が起きても急激な菌数低下を認めない試料であることが示された。

2) 定性試験

腸内細菌科菌群検査調査試料の定性試験の結果は表9に示したとおりであった。

冷蔵試料、常温試料ともに添加直後、添加29日後のどちらにおいても正しく判定が可能であったことから、定性試験への影響は無いと判断した。

3. サルモネラ属菌検査

1) 生菌数の挙動

サルモネラ属菌検査調査試料の生菌

数の挙動は図7および表4に示したとおりであった。

Salmonella sp. (陽性)、*P. mirabilis* (陰性)ともに冷蔵試料では添加直後から15日後までの期間で対数値1.0ポイント以内の増減傾向を示したことから、非常に安定な調査試料であることが示された。また常温試料では陽性、陰性試料ともに添加15日後の生菌数測定が可能であったことから、輸送時の温度上昇が起きても急激な菌数低下を認めない試料であることが示された。

2) 定性試験

サルモネラ属菌検査調査試料の定性試験の結果は表10、表11に示したとおりであった。

冷蔵試料、常温試料ともに添加直後、添加29日後のどちらにおいても正しく判定が可能であったことから、定性試験への影響は無いと判断した。

4. 大腸菌群検査

1) 生菌数の挙動

大腸菌群検査調査試料の生菌数の挙動は図8から図12および表5から表7に示したとおりであった。なお大腸菌群では調査試料の作製から各菌3回繰り返し、その平均値で評価した。また図には標準誤差を示した。

*Aeromonas hydrophila*を除く5菌種の冷蔵試料では添加直後から14日後以降の長期間において対数値1.0ポイント以内の増減傾向を示したことから、非常に安定な調査試料であることが示さ

れた。また常温試料では添加14日後の生菌数測定が可能であったことから、輸送時の温度上昇が起きても急激な菌数低下を認めない試料であることが示された。

2) 定性試験

大腸菌群検査調査試料の定性試験の結果は表12に示したとおりであった。

*A. hydrophila*を除く5菌種では冷蔵試料、常温試料ともに添加直後、添加28日後のどちらにおいても正しく判定が可能であったことから、定性試験への影響は無いと判断した。

なお*A. hydrophila*は添加菌数が不足していたことから、添加直後のみ試験を実施し、本検討から除外した。

E. 結論

技能試験に用いる調査試料に求める要件として、①公定法の試験操作で陽性・陰性の判定が可能であること、②実際の食品検査に近いマトリクスの基材で冷蔵保存可能であること、③冷蔵下で微生物の添加から14日以上安定の安定性が認められること（添加直後と添加14日後の差が対数値で±1.0ポイント以内）、④冷蔵から22.5℃（常温）に移管後も生菌数が測定可能であること、の4条件を挙げた。

本研究において、*E. coli*検査、腸内細菌科菌群検査及びサルモネラ属菌検査の調査試料では陽性、陰性菌ともに前述の4条件をクリアし、従来の添加菌濃度から低減した調査試料を技能試験に用いることの妥当性が示された。

添加菌濃度の低減と微生物の再検討を

併行して実施した大腸菌群検査の調査試料では、*Aeromonas hydrophila*を除く5菌種において前述の4条件をクリアし、従来の添加菌濃度から低減した調査試料を技能試験に用いることの妥当性が示された。

なお、本検討で技能試験に用いることの妥当性が示されたため、次年度（2021年度）から運用し、改善の要否判断を行うものとする。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

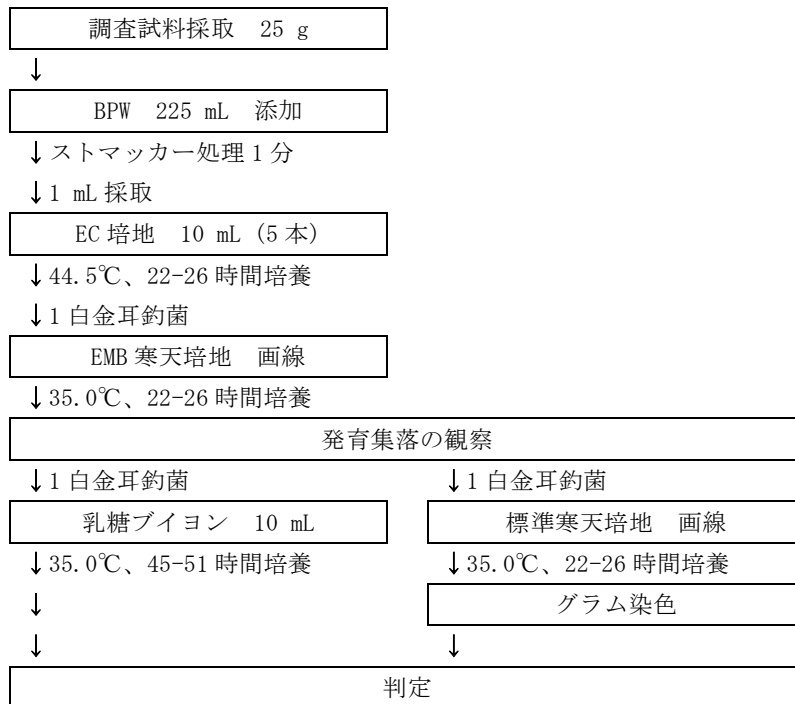


図1 E. coli 検査 試験手順

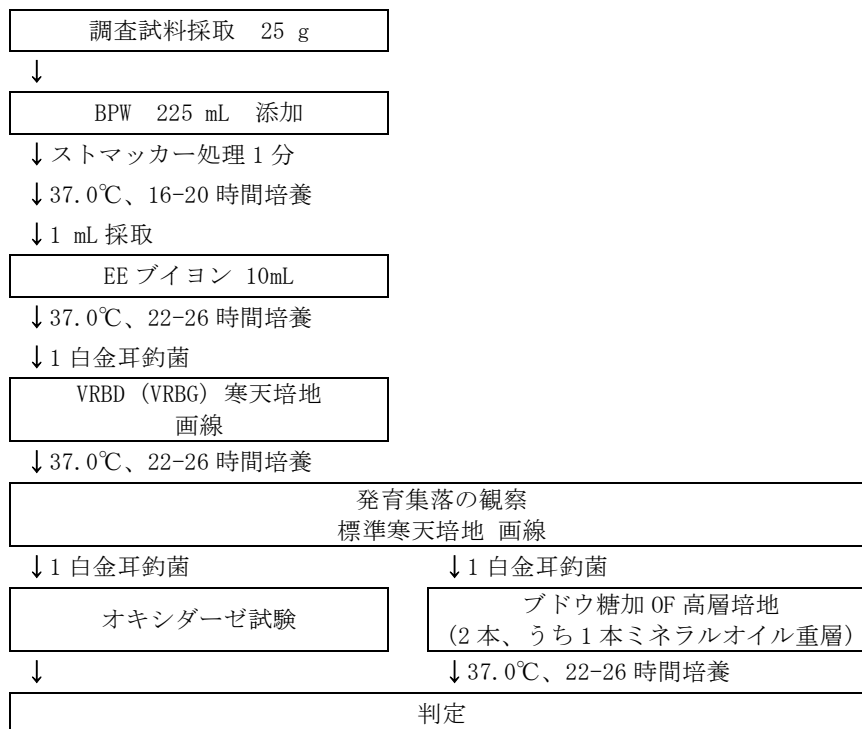


図2 腸内細菌科菌群検査 試験手順

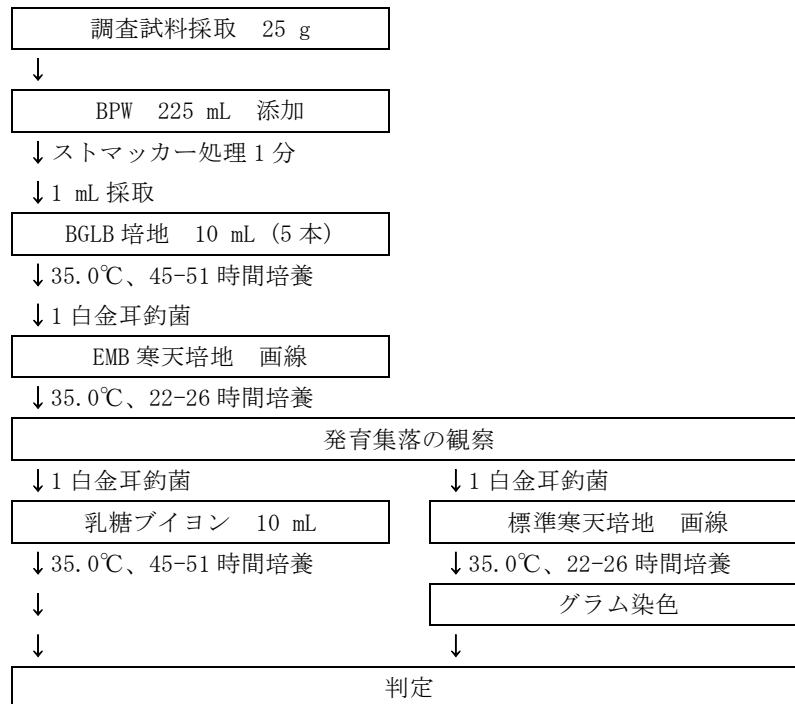


図3 大腸菌群検査 試験手順

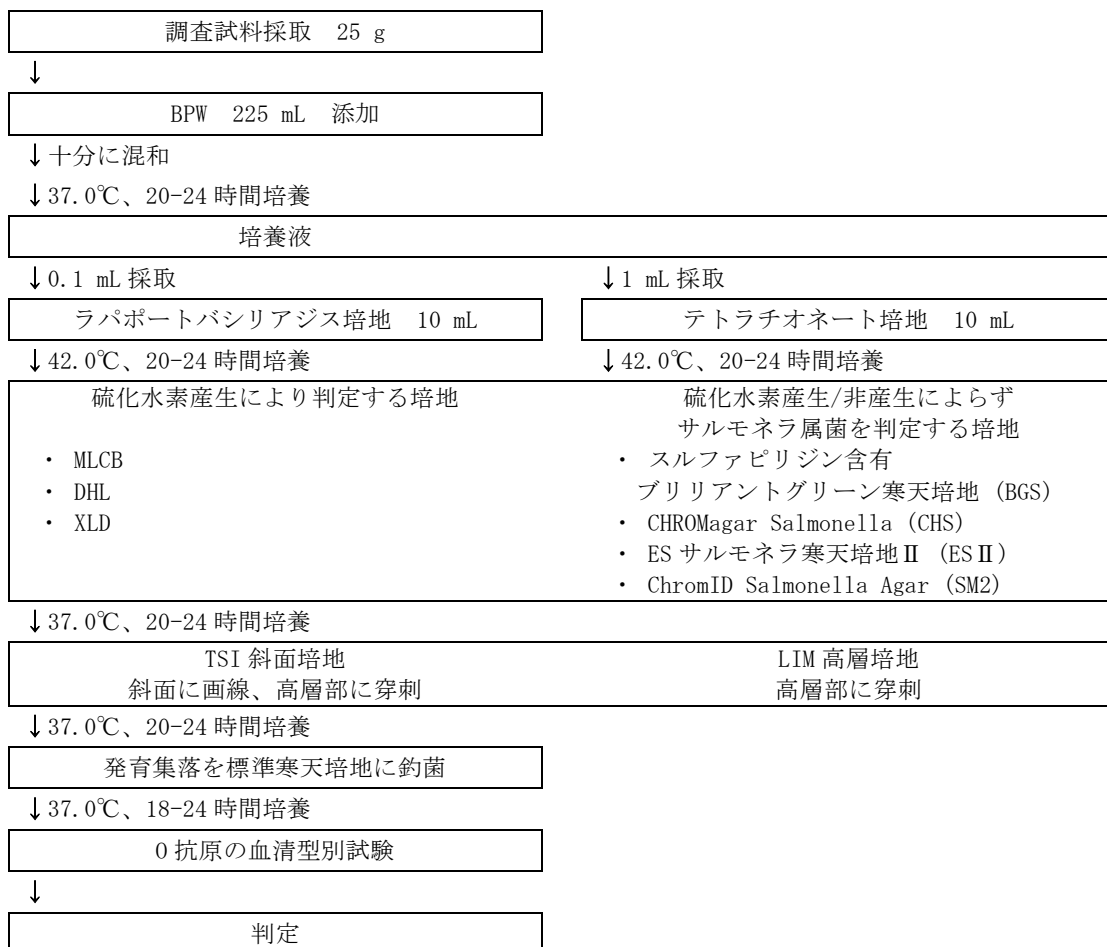


図4 サルモネラ属菌検査 試験手順

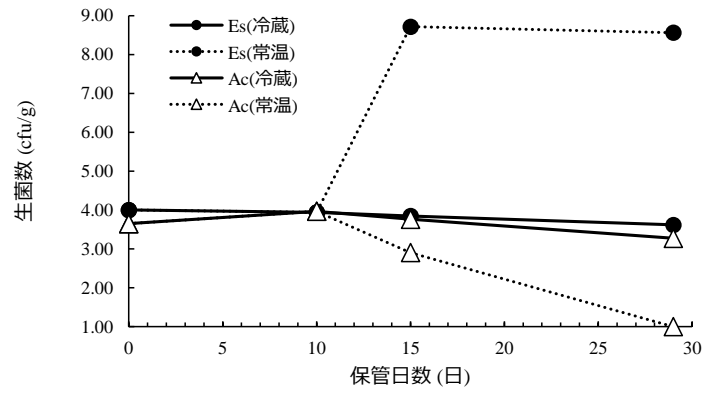


図 5 E.coli 検査 生菌数の挙動

(Es: *Escherichia coli* HIC 190367、Ac: *Acinetobacter calcoaceticus* HIC 190366)

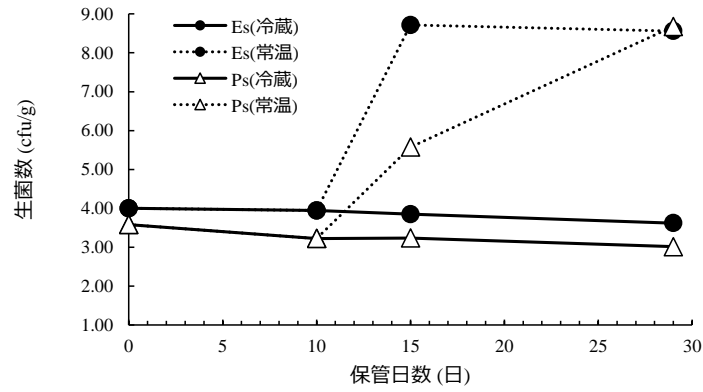


図 6 腸内細菌科菌群検査 生菌数の挙動

(Es: *Escherichia coli* HIC 190367、Ps: *Pseudomonas aeruginosa* HIC 190371)

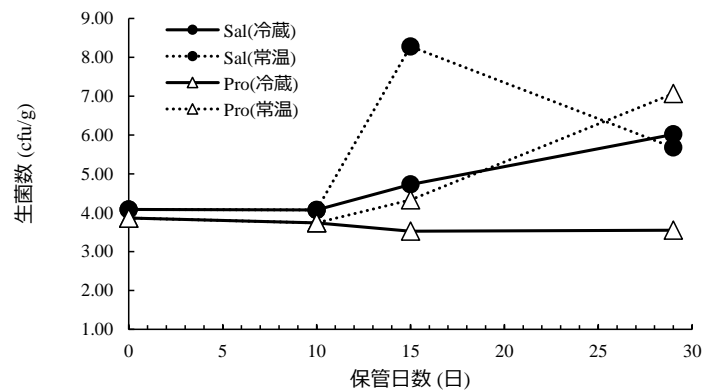


図 7 サルモネラ属菌検査 生菌数の挙動

(Sal: *Salmonella* sp. HIC 190364、Pro: *Proteus mirabilis* HIC 190368)

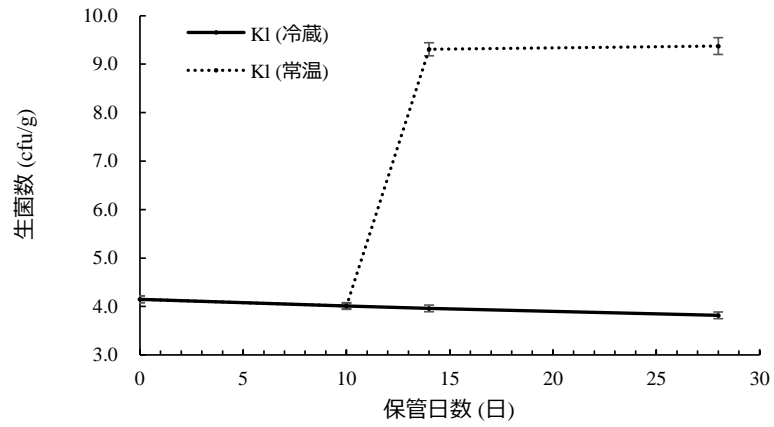


図 8 大腸菌群検査 生菌数の挙動 (*K. oxytoca*)

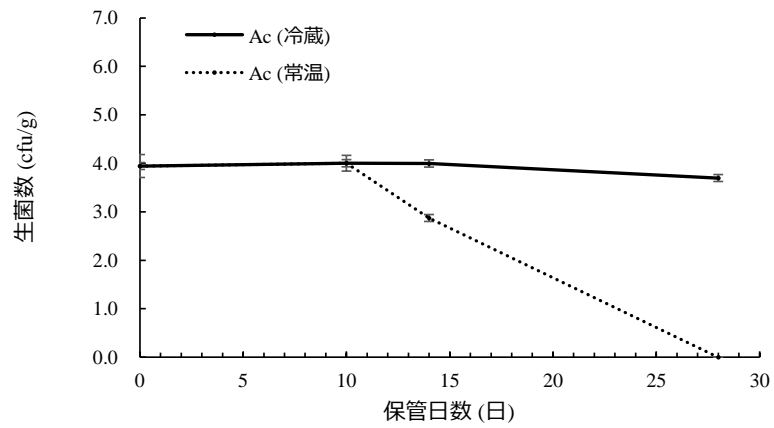


図 9 大腸菌群検査 生菌数の挙動 (*A. calcoaceticus*)

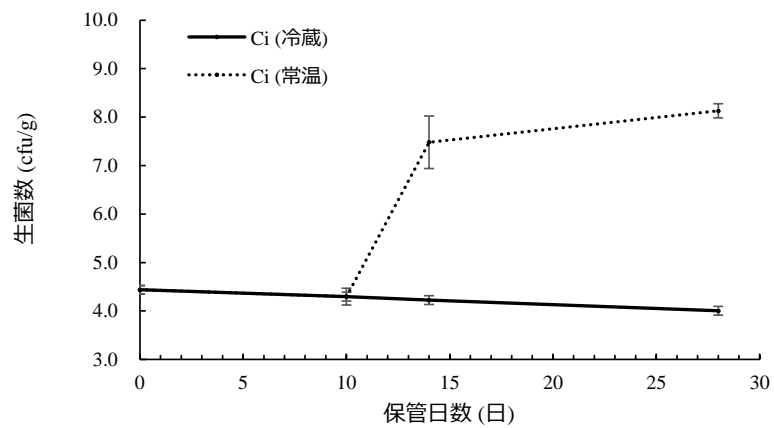


図 10 大腸菌群検査 生菌数の挙動 (*C. freundii*)

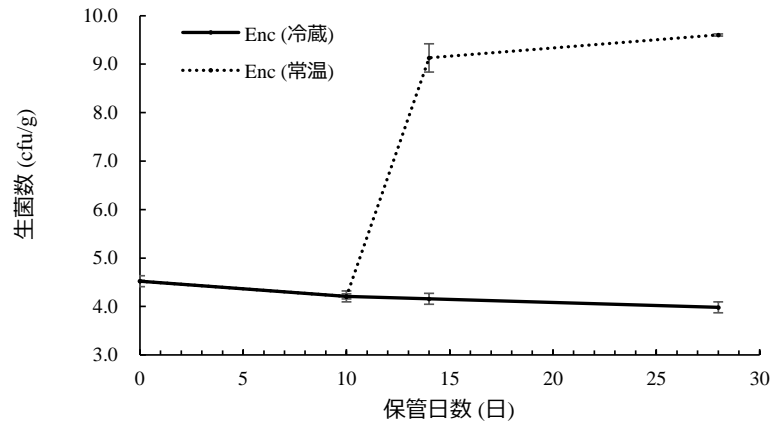


図 11 大腸菌群検査 生菌数の挙動 (*E. cloacae*)

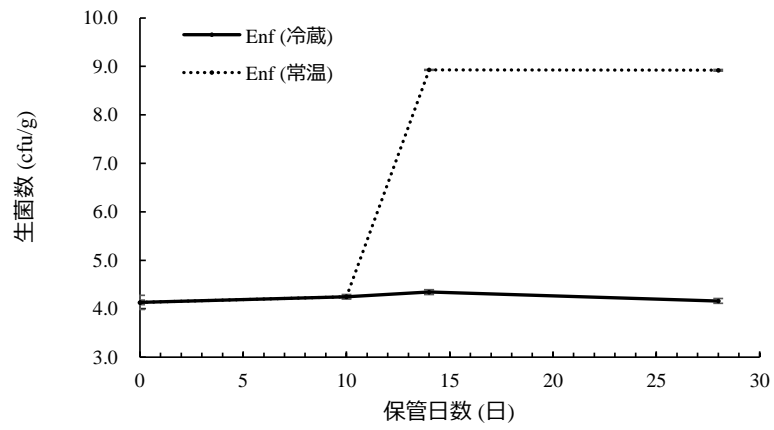


図 12 大腸菌群検査 生菌数の挙動 (*E. faecalis*)

表 1 調査試料の保管条件および試験内容

保管日数	冷蔵	温度変化試験 (22.5℃ (常温))
0 (添加直後)	● (添加後、保管せずに試験実施)	
10	○	(冷蔵から移管)
14 (または 15)	○	○
28 (または 29)	●	●

●: 生菌数測定および定性試験を実施。

○: 生菌数測定のみ実施。

表 2 調査試料の生菌数の挙動 (E.coli 検査)

保管日数	Es (冷蔵)	Es (常温)	Ac (冷蔵)	Ac (常温)
0	4.00	—	3.65	—
10	3.94	—	3.97	—
15	3.85	8.72	3.76	2.90
29	3.62	8.56	3.27	<1.0

単位: cfu/g (対数値)

Es: *Escherichia coli* HIC 190367、Ac: *Acinetobacter calcoaceticus* HIC 190366

表 3 調査試料の生菌数の挙動 (腸内細菌科菌群検査)

保管日数	Es (冷蔵)	Es (常温)	Ps (冷蔵)	Ps (常温)
0	4.00	—	3.58	—
10	3.94	—	3.22	—
15	3.85	8.72	3.24	5.57
29	3.62	8.56	3.01	8.68

単位: cfu/g (対数値)

Es: *Escherichia coli* HIC 190367、Ps: *Pseudomonas aeruginosa* HIC 190371

表 4 調査試料の生菌数の挙動 (サルモネラ属菌検査)

保管日数	Sal (冷蔵)	Sal (常温)	Pro (冷蔵)	Pro (常温)
0	4.08	—	3.86	—
10	4.07	—	3.74	—
15	4.73	8.28	3.53	4.33
29	6.02	5.68	3.55	7.07

単位: cfu/g (対数値)

Sal: *Salmonella* sp. HIC 190364、Pro: *Proteus mirabilis* HIC 190368

表 5 調査試料の生菌数の挙動（大腸菌群検査-1）

保管日数	Kl (冷蔵)	Kl (常温)	Ac (冷蔵)	Ac (常温)
0	4.15	—	4.00	—
10	4.00	—	4.04	—
14	3.95	9.34	4.00	3.00
28	3.85	9.40	3.70	<1.0

単位: cfu/g (対数値)、3 回実施した測定値の平均値を示した。

Kl: *Klebsiella oxytoca* HIC 190365、Ac: *Acinetobacter calcoaceticus* HIC 190366

表 6 調査試料の生菌数の挙動（大腸菌群検査-2）

保管日数	Ci (冷蔵)	Ci (常温)	Enc (冷蔵)	Enc (常温)
0	4.45	—	4.53	—
10	4.34	—	4.20	—
14	4.23	7.80	4.18	9.22
28	4.00	8.16	4.00	9.61

単位: cfu/g (対数値)、3 回実施した測定値の平均値を示した。

Ci: *Citrobacter freundii* HIC 190378、Enc: *Enterobacter cloacae* HIC 190379

表 7 調査試料の生菌数の挙動（大腸菌群検査-3）

保管日数	Ae (冷蔵)	Ae (常温)	Enf (冷蔵)	Enf (常温)
0	<1.0	—	4.15	—
10	*	—	4.26	—
14	*	*	4.34	8.93
28	*	*	4.23	8.92

単位: cfu/g (対数値)、3 回実施した測定値の平均値を示した。

Ae: *Aeromonas hydrophila* HIC 190377、Enf: *Enterococcus faecalis* HIC 190381

*: 添加した菌数が不足していたことから検討から除外し、試験を中止した。

表 8 調査試料の定性試験結果 (E.coli 検査)

保管日数	EC ^{※1}	EMB ^{※2}	LB ^{※3}	グラム染色	E.coli 判定 ^{※4}
1) <i>E. coli</i>					
0	+	+	+	グラム陰性無芽胞桿菌	陽性
29 (冷蔵)	+	+	+	グラム陰性無芽胞桿菌	陽性
29 (常温)	+	+	+	グラム陰性無芽胞桿菌	陽性
2) <i>A. calcoaceticus</i>					
0	-	-	-	グラム陰性無芽胞桿菌	陰性
29 (冷蔵)	-	-	-	グラム陰性無芽胞桿菌	陰性
29 (常温)	-	-	-	グラム陰性無芽胞桿菌	陰性

一試料に対し、n=5 で実施。

※1: 2 メーカーで実施。ガス産生陽性を陽性 (+)、それ以外を陰性 (-)と判定した。

※2: 金属光沢を伴う集落または黒色集落の発育を認めた場合に陽性 (+)、それ以外を陰性 (-) と判定した。

※3: 培地の黄変かつガス産生陽性を陽性 (+)、それ以外を陰性 (-) と判定した。

※4: EC 培地、EMB 培地、LB 培地で全て陽性 (+) かつグラム陰性無芽胞桿菌であった場合に E.coli 陽性と判定した。

表 9 調査試料の定性試験結果 (腸内細菌科菌群検査)

保管日数	VRBD (VRBG) ^{※1}	オキシダーゼ ^{※2}	ブドウ糖発酵性 ^{※3}	腸内細菌科菌群判定 ^{※4}
1) <i>E. coli</i>				
0	+	-	+	陽性
29 (冷蔵)	+	-	+	陽性
29 (常温)	+	-	+	陽性
2) <i>P. aeruginosa</i>				
0	+	+	- (ブドウ糖酸化)	陰性
29 (冷蔵)	+	+	- (ブドウ糖酸化)	陰性
29 (常温)	+	+	- (ブドウ糖酸化)	陰性

※1: 淡紅色～赤色または紫色の発育集落を認める場合に陽性 (+)、それ以外を陰性 (-) と判定した。

※2: チトクローム・オキシダーゼろ紙が青く変色した場合に陽性 (+)、それ以外を陰性 (-) と判定した。

※3: ブドウ糖加 OF 高層培地 (ミネラルオイル重層) で黄変を認めた場合に陽性 (+)、それ以外を陰性 (-) と判定した。好気培養で培地上部が黄変した場合は「ブドウ糖酸化」を表中に記載した。

※4: VRBD 寒天培地で陽性 (+)、オキシダーゼ陰性 (-)、ブドウ糖発酵性陽性 (+)の場合に腸内細菌科菌群陽性と判定した。

表 10 調査試料の定性試験結果 (サルモネラ属菌検査-1、*Salmonella* sp.)

保管日数	増菌培地 ^{※1}	選択培地 ^{※2}	TSI・LIM ^{※3}	O 抗原	サルモネラ属判定 ^{※4}			
0	RVB	+	DHL	+	+	+	O4 群	陽性
		XLD	+	+	+			
		MLCB	+	+	+			
		BGS	+	+	+			
		CHS	+	+	+			
		ES II	+	+	+			
		SM2	+	+	+			
	TT	+	DHL	+	+	+		
		XLD	+	+	+			
		MLCB	+	+	+			
		BGS	+	+	+			
		CHS	+	+	+			
		ES II	+	+	+			
		SM2	+	+	+			
29 (冷蔵)	RVB	+	DHL	+	+	+	O4 群	陽性
		XLD	+	+	+			
		MLCB	+	+	+			
		BGS	+	+	+			
		CHS	+	+	+			
		ES II	+	+	+			
		SM2	+	+	+			
	TT	+	DHL	+	+	+		
		XLD	+	+	+			
		MLCB	+	+	+			
		BGS	+	+	+			
		CHS	+	+	+			
		ES II	+	+	+			
		SM2	+	+	+			
29 (常温)	RVB	+	DHL	+	+	+	O4 群	陽性
		XLD	+	+	+			
		MLCB	+	+	+			
		BGS	+	+	+			
		CHS	+	+	+			
		ES II	+	+	+			
		SM2	+	+	+			
	TT	+	DHL	+	+	+		
		XLD	+	+	+			
		MLCB	+	+	+			
		BGS	+	+	+			
		CHS	+	+	+			
		ES II	+	+	+			
		SM2	+	+	+			

※1: ラポポートバシリアジス培地 (RVB) は 2 メーカーを使用。日本製薬製では全て発育集落を認めなかったため、OXOID 製のみ示した。テトラチオネート培地 (TT) は 1 メーカーを使用。各培地で増菌あり (+)、増菌なし (-)、判定不可 (/) を示した。

※2: DHL、XLD、MLCB は黒色集落、スルファピリジン含有ブリリアントグリーン寒天培地 (BGS) は無色透明の集落、CHROMagar Salmonella 寒天培地 (CHS) は藤色集落、ES サルモネラ寒天培地 II (ES II)、ChromID Salmonella 寒天培地 (SM2) はピンク色集落を陽性 (+)、それ以外を陰性 (-) と判定した。

※3: TSI 斜面培地は高層部黄変、黒変、ガス産生および斜面部赤変、LIM 高層培地は培地全体が紫変およびインドール重層時に接触部の赤変なし (インドール反応陰性) の場合に陽性 (+)、それ以外を陰性 (-) と判定した。

※4: いずれかの選択培地で陽性を示し、O 抗原血清型別試験で血清型別を決定できた場合にサルモネラ属菌陽性と判定した。

表 11 調査試料の定性試験結果 (サルモネラ属菌検査-2、*P. mirabilis*)

保管日数	増菌培地 ^{※1}	選択培地 ^{※2}	TSI・LIM ^{※3}	O 抗原	サルモネラ属判定 ^{※4}		
0	RVB	/	DHL	-	-	なし	陰性
			XLD	-	-		
			MLCB	-	*		
			BGS	-	*		
			CHS	-	*		
			ES II	-	*		
			SM2	-	*		
	TT	/	DHL	-	*		
			XLD	-	*		
			MLCB	-	*		
			BGS	-	*		
			CHS	-	*		
			ES II	-	*		
			SM2	-	*		
29 (冷蔵)	RVB	/	DHL	-	-	なし	陰性
			XLD	-	-		
			MLCB	-	-		
			BGS	-	-		
			CHS	-	*		
			ES II	-	*		
			SM2	-	-		
	TT	/	DHL	-	-		
			XLD	-	-		
			MLCB	-	-		
			BGS	-	-		
			CHS	-	*		
			ES II	-	*		
			SM2	-	-		
29 (常温)	RVB	/	DHL	-	-	なし	陰性
			XLD	-	-		
			MLCB	-	-		
			BGS	-	-		
			CHS	-	*		
			ES II	-	*		
			SM2	-	-		
	TT	/	DHL	-	-		
			XLD	-	-		
			MLCB	-	-		
			BGS	-	-		
			CHS	-	*		
			ES II	-	*		
			SM2	-	-		

*: 選択培地で発育集落を認めなかったため実施せず。

※1: ラポポートバシリアジス培地 (RVB) は 2 メーカーを使用。日本製薬製では全て発育集落を認めなかったため、OXOID 製のみ示した。テトラチオネート培地 (TT) は 1 メーカーを使用。各培地で増菌あり (+)、増菌なし (-)、判定不可 (/) を示した。

※2: DHL、XLD、MLCB は黒色集落、スルファペリジジン含有ブリリアントグリーン寒天培地 (BGS) は無色透明の集落、CHROMagar Salmonella 寒天培地 (CHS) は藤色集落、ES サルモネラ寒天培地 II (ES II)、ChromID Salmonella 寒天培地 (SM2) はピンク色集落を陽性 (+)、それ以外を陰性 (-) と判定した。

※3: TSI 斜面培地は高層部黄変、黒変、ガス産生および斜面部赤変、LIM 高層培地は培地全体が紫変およびインドール重層時に接触部の赤変なし (インドール反応陰性) の場合に陽性 (+)、それ以外を陰性 (-) と判定した。

※4: いずれかの選択培地で陽性を示し、O 抗原血清型別試験で血清型別を決定できた場合にサルモネラ属菌陽性と判定した。

表 12 調査試料の定性試験結果（大腸菌群検査）

保管日数	BGLB ^{※1}	EMB ^{※2}	LB ^{※3}	グラム染色	大腸菌群判定 ^{※4}
1) <i>K. oxytoca</i>					
0	+	+	+	グラム陰性無芽胞桿菌	陽性
29 (冷蔵)	+	+	+	グラム陰性無芽胞桿菌	陽性
29 (常温)	+	+	+	グラム陰性無芽胞桿菌	陽性
2) <i>A. calcoaceticus</i>					
0	-	-	-	グラム陰性無芽胞桿菌	陰性
29 (冷蔵)	-	-	-	グラム陰性無芽胞桿菌	陰性
29 (常温)	-	-	-	グラム陰性無芽胞桿菌	陰性
3) <i>C. freundii</i>					
0	+	+	+	グラム陰性無芽胞桿菌	陽性
29 (冷蔵)	+	+	+	グラム陰性無芽胞桿菌	陽性
29 (常温)	+	+	+	グラム陰性無芽胞桿菌	陽性
4) <i>E. cloacae</i>					
0	+	+	+	グラム陰性無芽胞桿菌	陽性
29 (冷蔵)	+	+	+	グラム陰性無芽胞桿菌	陽性
29 (常温)	+	+	+	グラム陰性無芽胞桿菌	陽性
5) <i>A. hydrophila</i>					
0	-	-	-	グラム陰性無芽胞桿菌	陰性
29 (冷蔵)	*	*	*	*	*
29 (常温)	*	*	*	*	*
6) <i>E. faecalis</i>					
0	-	+	- ^{※5}	グラム陽性球菌	陰性
29 (冷蔵)	-	+	- ^{※5}	グラム陽性球菌	陰性
29 (常温)	-	+	- ^{※5}	グラム陽性球菌	陰性

*: 添加した菌数が不足していたことから検討から除外し、試験を中止した。

※1: ガス産生を認める場合に陽性 (+)、それ以外を陰性 (-) と判定した。

※2: 金属光沢を伴う集落または黒色集落の発育を認めた場合に陽性 (+)、それ以外を陰性 (-) と判定した。

※3: 培地の黄変かつガス産生陽性を陽性 (+)、それ以外を陰性 (-) と判定した。

※4: BGLB 培地、EMB 培地、LB 培地で全て陽性 (+) かつグラム陰性無芽胞桿菌であった場合に *E. coli* 陽性と判定した。

※5: 培地の黄変を認めたがガス産生を認めなかったため陰性と判定した。