

令和6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
ーサルモネラ属菌検査用調査試料の開発(4)ー

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、微生物学調査では硫化水素（ H_2S ）非産生株を用いたサルモネラ属菌検査用調査試料の開発を行った。

H_2S 非産生株を用いたサルモネラ属菌検査用調査試料の開発では50機関の参加機関に対してパイロットスタディを実施した。パイロットスタディでは、 H_2S 非産生サルモネラ属菌2菌株およびサルモネラ陰性菌1菌株の計3菌株を個別に添加した3本の調査試料を配付した。なお H_2S 非産生株は2023年度の厚生労働科学研究費補助金にて実施したパイロットスタディに使用した1菌株と、別途スクリーニング試験でクエン酸利用能試験の反応が比較的わかりやすい1菌株を選択、採用した。調査試料は性能評価を実施し、1か月間の冷蔵保存で安定していることを確認してから同一ロットの資材で配付用調査試料を作製し、参加機関に配付し報告値の回収および解析を実施した。なお配付用調査試料は配付前の均質性確認、報告期限後の安定性確認で調査試料の品質評価を実施した。

H_2S 非産生株を用いたサルモネラ属菌検査のパイロットスタディ用調査試料は性能評価、均質性確認、安定性確認ともに評価基準を満たしていた。参加した50機関のうち、35機関が正しく判定した。14機関がNo. 1を陰性と誤判定、1機関がNo. 2を陰性と誤判定、1機関がNo. 3を陽性と誤判定した。さらに3種とも陰性、3種とも陽性と判定した機関がそれぞれ1機関、3種とも誤判定した機関はなかった。本調査研究においてTSI培地でガス産生が認められないことを理由に陰性と判定した機関が一定数存在していた。これらの機関においては硫化水素非産生サルモネラ属菌を検出できないリスクを含んでいる可能性が示唆された。食品衛生上の硫化水素非産生サルモネラ属菌が原因となる事故割合は不明であるが、公定法の求める水準に対し、サルモネラ属菌検査に対する知見が不足している検査機関が想定より多いことが懸念される結果となった。

A. 研究目的

食品衛生外部精度管理調査事業において、現在当財団で実施している微生物学調査区分のサルモネラ属菌検査ではH₂S 産生 *Salmonella* sp. を陽性菌、*Proteus mirabilis* を陰性菌として配付している。サルモネラ属菌検査ではH₂S 産生株、非産生株が公定法の検出対象であるが、H₂S 非産生菌を用いた調査試料はまだ存在せず、外部精度管理調査の課題であった。今年度の研究では 2023 年度の結果をもとに採用菌株を一部変更して H₂S 非産生株を用いたサルモネラ属菌検査をパイロットスタディで実施し、運用上の問題点の洗い出しを目的とした。

B. 方法

1. 試料基材および添加菌

1) 試料基材

試料基材は液卵希釈液（市販の液卵を希釈液で1/5希釈した溶液）を用いた。

2) 添加菌

添加菌は①*Salmonella* sp. HIC 240414、②*Salmonella* sp. HIC 240430、③*Morganella morganii* HIC 240415を用いた。①②はH₂S非産生株（サルモネラ属菌陽性）、③はサルモネラ陰性株である。

3) 培地等

後述で用いる培地名の略称は、[] で示す。

- ・精製水（日本薬局方）（小堺製薬）
- ・標準寒天培地 [SA]
（島津ダイアグノスティクス）
- ・SCD培地 [SCDB]（塩谷エムエス）
- ・NaCl（試薬特級、富士フイルム和光純薬）

- ・Tween 80（東京化成工業）
- ・0.04w/v% フェノールレッド溶液
（富士フイルム和光純薬）
- ・緩衝ペプトン水（ISO組成）[BPW]
（島津ダイアグノスティクス）
- ・ラパポート・バシリアジス・サルモネラ増菌液体培地 [RVB]（塩谷エムエス）
- ・テトラチオネート培地 [TTB]
（島津ダイアグノスティクス）
- ・よう化カリウム（試薬特級）
（富士フイルム和光純薬）（TTBに添加）
- ・よう素（試薬特級）
（富士フイルム和光純薬）（TTBに添加）
- ・DHL寒天培地 [DHLA]
（島津ダイアグノスティクス）
- ・XLD（キシロース・リジン・デソキシコール酸）寒天培地 [XLDA]
（塩谷エムエス）
- ・MLCB寒天培地 [MLCBA]
（島津ダイアグノスティクス）
- ・ブリリアントグリーン寒天培地
（栄研化学）滅菌後にスルファピリジン添加 [BGSA]
- ・Sulfapyridine（東京化成特級）
（東京化成工業）（BGSAに添加）
- ・N,N-Dimethylformamide
（東京化成特級）（東京化成工業）
（BGSAに添加）
- ・CHROMagar *Salmonella* [CHS]
（CHROMagar）
- ・ESサルモネラ寒天培地Ⅱ [ESⅡA]
（栄研化学）
- ・chromID *Salmonella* agar [SM2A]
（バイオメリュウ）
- ・TSI寒天培地 [TSIA]
（島津ダイアグノスティクス）

- ・LIM培地 [LIMA]
(島津ダイアグノスティクス)
- ・Kovacs reagent (バイオメリュー)
- ・サルモネラ免疫血清「生研」1号セット (デンカ)
- ・API 20E (バイオメリュー)
- ・SC培地 (島津ダイアグノスティクス)
- ・SC培地 (極東製薬)

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内で行い、培養には恒温槽または恒温水槽を使用した。

3. 準拠する試験法

サルモネラ属菌検査は、「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年食安発0729第4号)に準拠して実施した(図1)。

調査試料25 gをBPW (ISO組成) 225 mLで10倍希釈したものを試験溶液とした。これを37.0℃設定の恒温槽で20-24時間培養した。培養後のBPWから0.1 mLをRVBに、1 mLをTTBに移植し、42.0℃設定の恒温水槽で20-24時間培養した。培養後、各培養液からDHLLA、XLDA、MLCBA、BGSA、CHS、ES II A、SM2Aに移植し、37.0℃設定の恒温槽で20-24時間培養した。培養後の発育集落の一部をTSIA (斜面培地) に画線、穿刺し、LIMA (高層培地) に穿刺した後、37.0℃設定の恒温槽で20-24時間培養した。LIMAは培養後の観察後にKovacs reagentを重層し、インドール反応を確認した。TSIAの発育集落の一部をSAに移植

し、37.0℃設定の恒温槽で18時間以上培養し、その発育集落を用いてO血清群別試験を実施した。なお、H₂S非産生サルモネラ属菌はO血清群別試験と並行して簡易同定キット (API 20E) およびSC培地に供し、オキシダーゼ試験、クエン酸利用能試験、VP試験、ONPG試験を実施した。一連の試験においてサルモネラの定型反応を示す場合に陽性、示さない場合に陰性と判定した。

なお、生菌数測定を要する場合は試験溶液をBPWで10倍段階希釈し、各希釈段から1 mLを2枚のシャーレに分取してSAで混釈平板培地にしたものを37.0℃設定の恒温槽で18時間以上培養し、計測した集落数をもとに生菌数を算出した。

4. 調査試料作製

調査試料作製手順を図2に示した。

1) 基材の滅菌

NaCl 153 g、Tween80 180 g、精製水 12.6 L、グリセリン 1800 gを均質化し、80 mLずつ樹脂製容器 (100 mL) に分注後、121℃30分で高圧蒸気滅菌をした。

2) 添加菌液の調製

凍結保存菌株をSAに移植し、35.0℃設定の恒温槽で24時間培養した。発育集落をSCD培地100 mLに1白耳移植し、35.0℃設定の恒温槽で24時間培養した。この培養液を生理食塩液で100倍希釈し、さらにフェノールレッド含有生食で10倍希釈したものを添加菌液とした。

フェノールレッド含有生食は1.8 % NaCl溶液と0.04 w/v% フェノールレッド溶液を等量混和して作製した。

3) 調査試料の作製

滅菌後の基材に市販の無菌卵黄液20 mLおよび添加菌液1 mLを添加し、均質になるよう十分に攪拌した。これを調査試料とした。なお添加菌は参加機関には開示せず、調査試料No. 1、No. 2、No. 3として作製した。

調査試料は使用、または配付するまで冷蔵保存した。

5. 性能評価

1) 保存条件

調査試料の保存条件は冷蔵保存（以下、「冷蔵試料」という）、冷蔵保存10日後に22.5℃に移送（以下、「常温試料」という）の2条件とした。

常温試料は実際の調査試料配付を想定し、保存中の温度変化を考慮して行う参考情報とした。

2) 生菌数測定

冷蔵試料は添加菌の添加直後、保存開始から10、14、28日後に生菌数測定を行った。常温試料は保存開始から14、28日後に生菌数測定を行った。各ポイントで調査試料を1個使用した。

3) 定性試験

全工程で公定法に記載された全ての培地を使用した。なお定性試験は添加菌の添加直後、保存開始から14、28日後に行った。

6. パイロットスタディ（品質評価）

1) 配付用調査試料の作製

4項に示した方法で配付用調査試料を作製し、その一部を用いて品質評価を行った。

2) 均質性確認試験

添加菌ごとに、配付用調査試料から系統的に抽出した5個の配付用調査試料を用いて生菌数試験を行い、その平均値を添加濃度とした。また、5個の配付用調査試料のうち2個を用いて定性試験を行った。なお分離培地はXLDAとESⅡAを使用した。

3) 安定性確認試験

添加菌ごとに、系統的に抽出した1個の配付用調査試料を用いて、作製から約2か月後に均質性確認試験と同様の定性試験および生菌数測定を行った。

7. パイロットスタディ（室間共同試験）

50機関の参加機関に対して配付用調査試料を冷蔵便で発送し、参加機関から検査結果を回収した。見立て食材を「殺菌液卵」とし、試料処理および測定操作は各機関の方法で実施し、繰り返し試験数は1回とした。検査機関からの報告期限は2024年12月20日とした。なお、倫理面への配慮として、参加機関に配付する結果報告書では検査機関をコード番号化し、調査に関する秘密保持を図った。

C. D. 研究結果および考察

1. 調査試料の性能評価

添加菌①、②、③の接種直後の濃度はそれぞれ 9.8×10^3 、 7.5×10^3 、 9.9×10^3 cfu/gであった。冷蔵試料では保管開始から28日後まで大きな菌数の増減は観察されなかった。また、10日後に冷蔵から22.5℃に移管した常温試料でも添加菌③以外は28日目まで生菌数を算出できた。定性試験においては添加菌①②が陽性（H₂S 産生+、O 血清群別試験結果①09 群、②07 群）、添加菌③が陰性と判

定されたことから、添加菌濃度を調整することで添加 28 日後でも定性試験は確実に実施可能と判断し、調査試料の品質に影響は生じないと評価した（図 3、表 1）。

2. パイロットスタディ（品質評価）

均質性確認において添加菌①、②、③の配付用調査試料の生菌数平均値（添加濃度）はそれぞれ 9.9×10^3 、 6.2×10^3 、 2.8×10^5 cfu/g であった。また、定性試験でも分離培地などで増殖能に若干の差があったものの、性能評価と同様の判定結果が得られたことから、配付用調査試料は均質であると評価した（表 2）。

配付から約 2 か月後に実施した安定性確認において添加菌①、②、③の生菌数は 5.4×10^3 、 4.6×10^3 、 1.8×10^2 cfu/g であった。①、②は均質性確認時と同等、③は均質性確認時の 1/100 程度に減少したが、定性試験の結果は均質性確認試験と同様の判定結果となったことから、定性試験を実施する上で影響がないと判断し、パイロットスタディ実施期間中の調査試料は安定であったと評価した（表 3）。

3. パイロットスタディ（室間共同試験）

対象とした全 50 機関から結果を回収した。結果は表 4 に、経過記録書の集計結果は表 5 および表 6 に示した。また、アンケート結果を表 7 に示した。

1) 定性試験

50 機関が参加し、35 機関が正しく判定した。14 機関が No. 1 を陰性と誤判定、1 機関が No. 2 を陰性と誤判定、1 機関が No. 3

を陽性と誤判定した。さらに 3 種とも陰性、3 種とも陽性と判定した機関がそれぞれ 1 機関、3 種とも誤判定した機関はなかった。

2) 経過記録書の集計結果

採用された培地等に関する度数を表 5、表 6 に示した。なお、今回の調査では、緩衝ペプトン水（前増菌培地）、ラパポート・バシリアデイス培地/テトラチオン酸塩培地の組み合わせ（増菌培地）、DHL 寒天培地/クロモアガーサルモネラの組み合わせ（分離培地）、TSI 培地/LIM 培地の組み合わせ（確認用培地）、O 血清群別試験、生化学的性状試験（オキシダーゼ試験、クエン酸利用能確認試験、VP 試験、ONPG 試験の 4 種；簡易同定キットによる確認を含む）を採用する検査機関が多く、推定を含め 17 機関がこの工程および培地で実施した。

このほか、硫化水素の産生により判定する分離用寒天培地として MLCB 寒天培地、硫化水素の産生によらない分離培地として ES サルモネラ寒天培地Ⅱを採用している検査機関も比較的多かった。また、生化学的性状試験において 33 機関がクエン酸利用能試験を実施し、クエン酸利用能試験を実施していない 17 機関のうち 13 機関は簡易同定キットでクエン酸利用能を確認していた。

3 菌種とも陽性と判定した 1 機関は、侵入性因子関連遺伝子 *invA* の検出陽性を理由にサルモネラ属菌であることを判定していた。当財団では、当該試験の実績がないため確証はないが、No. 3 はコンタミネーションによる誤判定の可能性が高いと考えられる。

3 菌種とも陰性と判定した 1 機関は、緩衝ペプトン水（増菌培地）、ラパポート・バシリアディス培地/テトラチオン酸塩培地の組み合わせ（増菌培地）、MLCB 培地/ブリリアントグリーン寒天培地の組み合わせ（分離培地）、TSI 培地/LIM 培地の組み合わせ（確認用培地）の工程で試験を実施し、各試験結果は他の参加検査機関と大きな差は認められなかったが、通常サルモネラ属菌の定型反応ではないことを理由に陰性と判定していた。当該検査機関の判定基準では、硫化水素非産生性のサルモネラ属菌の検出は困難であると考えられる。

本調査研究において TSI 培地でガス産生が認められないことを理由に陰性と判定した機関が一定数存在していた。これらの機関においては硫化水素非産生サルモネラ属菌を検出できないリスクを含んでいる可能性が示唆された。食品衛生上の硫化水素非産生サルモネラ属菌が原因となる事故割合は不明であるが、公定法の求める水準に対し、サルモネラ属菌検査に対する知見が不足している検査機関が想定より多いことが懸念される結果となった。

また、0 血清群別試験を実施した機関のうち 1 機関は No. 1 を 07 群、No. 2 を 09 群と報告しており、最終判定では陽性/陰性の誤判定はなかったが、検体の取り違いやラベルミスなどの誤操作が発生していた可能性が示唆された。

0 血清群別試験を実施し、正誤を問わず 0 群別結果が得られた機関のうち、2 機関が No. 1 を陰性と誤答していた。2 機関とも確認用培地（TSI 培地/LIM 培地）などの

結果からサルモネラ属菌陰性と判定していたが、「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）に記載の通り、0 血清群別試験にて凝集が認められたものは陽性と判定したほうがよいと考えられる。

本調査研究では、硫化水素非産生サルモネラ属菌 2 菌株（No. 1 および No. 2）、サルモネラ以外の 1 菌株（No. 3）を採用した。なお No. 2 は 2023 年度の調査研究でも採用した菌株である。No. 1 は当財団においてクエン酸利用能を判定しやすい硫化水素非産生サルモネラ属菌株をスクリーニングして採用した。しかし、当財団の事前試験において No. 1 は No. 2 より途中工程の選択寒天培地に対する増殖が弱いことを確認しており、本調査研究においても No. 1 を誤判定した機関が全体の約 3 割であったため、実運用に適さないことを裏付ける結果となった。

3) アンケート結果

外部精度管理調査事業の今後の運用として、H₂S 産生/非産生サルモネラ属菌および陰性菌の 3 種のうち 2 種の組み合わせで実施する場合のアンケート調査を行ったところ、「どの組み合わせでもよい」

「陽性菌と陰性菌の組み合わせであればよい」を合わせると 94%が H₂S 非産生サルモネラ属菌の調査試料に前向きな回答であった。

また、パイロットスタディに対するコメントとして、H₂S 非産生サルモネラ属菌のクエン酸利用能の定型反応が弱いといったコメントが散見された。本試験に使

用するシモンズクエン酸培地はメーカーによる反応差や菌の接種量による偽陰性/偽陽性が出やすく、検査員の経験や技量が大きく影響する可能性が示唆された。

E. 結論

H₂S非産生株を用いたサルモネラ属菌検査のパイロットスタディでは、50機関中15機関（全体の30%）が何らかの理由で誤判定した。特に添加菌①については誤答率が高く、調査試料には適さないと考えられたが、添加菌②③は調査試料としてはほぼ問題ないと考えられる結果であった。ただし、一部の機関の操作手順では、O血清群別試験の結果でサルモネラ陽性を示しても生化学的性状試験で定型反応を示さない場合に陰性と判定することとなっている。これが見直されない限り、H₂S非産生サルモネラを用いた外部精度管理を実施した場合にこれらの機関は正答できない可能性が高い。

なお、判定基準に関しては公定法の記載順にも誤解を招く要因があると考えられる。

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

- 1) 硫化水素非産生株を用いたサルモネラ属菌検査の技能試験プログラム開発：

梶原三智香、中阪聡亮、堀田実和、高坂典子、渡辺卓穂（第120回日本食品衛生学会学術大会 2024. 11. 7～2024. 11. 8）

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

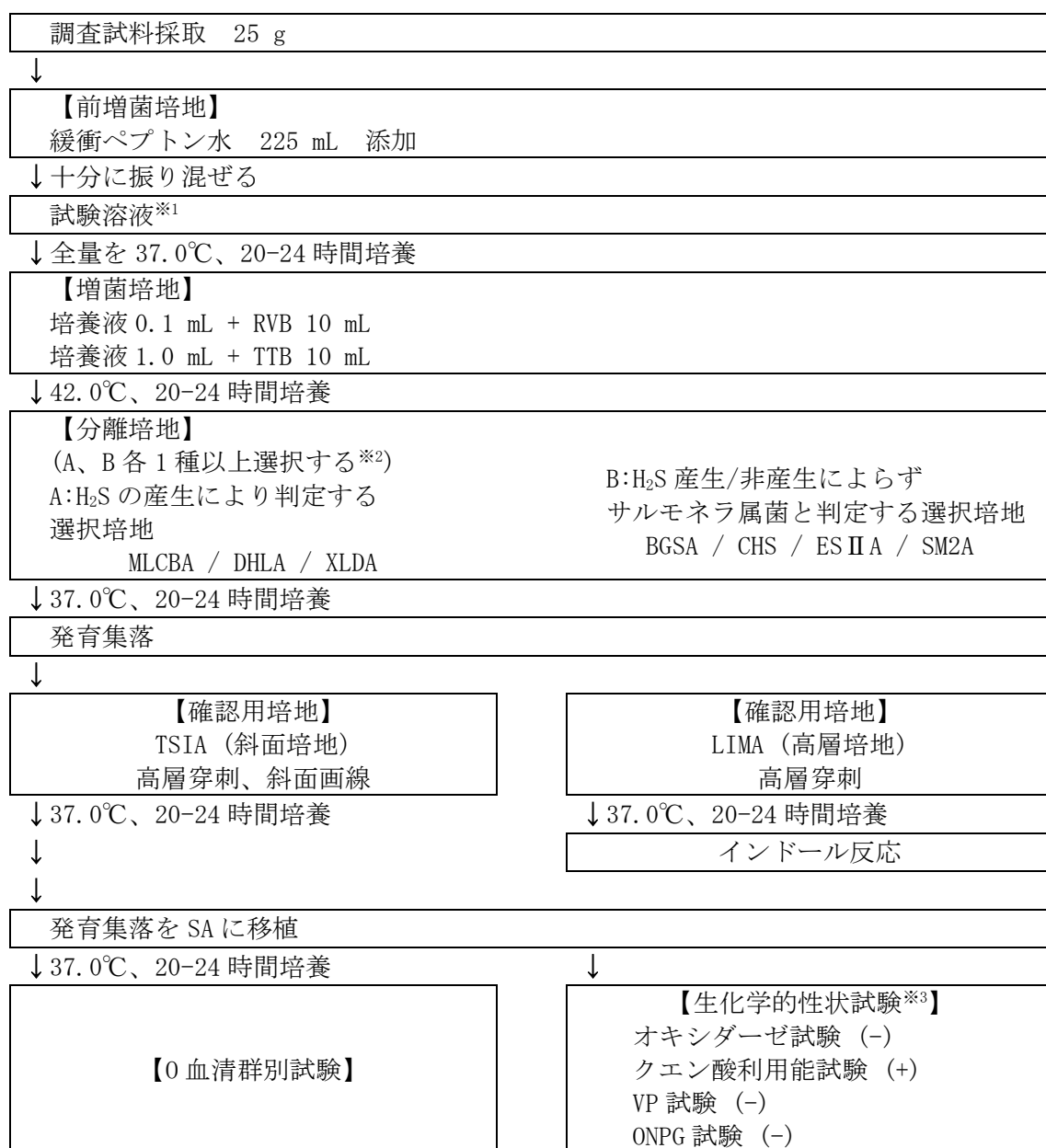
なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし



※1：生菌数測定を要する場合は試験溶液の一部を10倍段階希釈し、SAで混釈平板培地にした後、37.0℃で18時間以上培養して集落数の計測、生菌数の算出を実施した。

※2：性能評価以外はXLDA、ESⅡAのみを使用した。

※3：API 20Eを用いて実施した。クエン酸利用能試験はSC培地（37.0℃、24時間培養）を併用した。

図1 サルモネラ属菌検査 試験手順

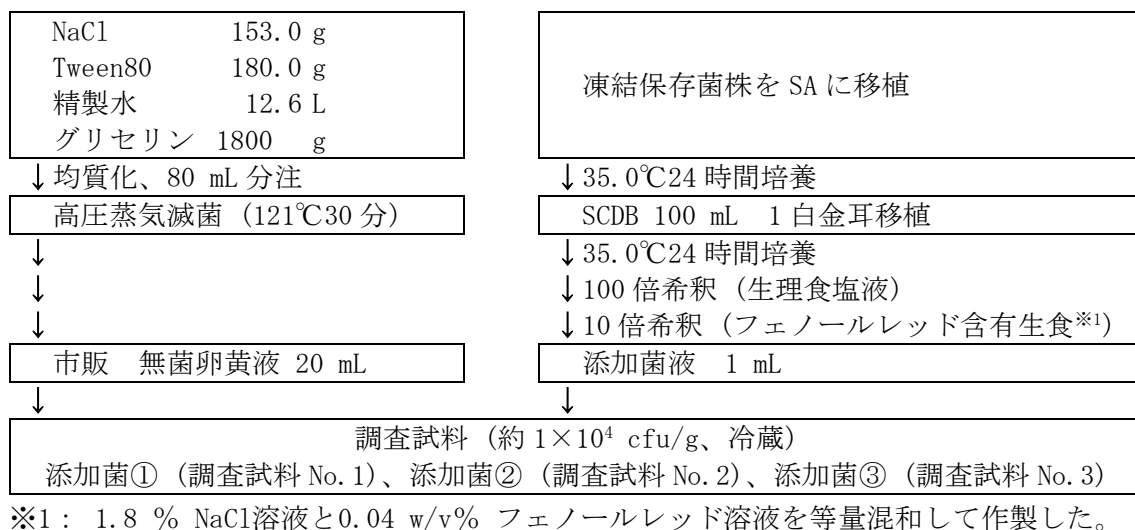


図2 サルモネラ属菌検査 調査試料作製手順

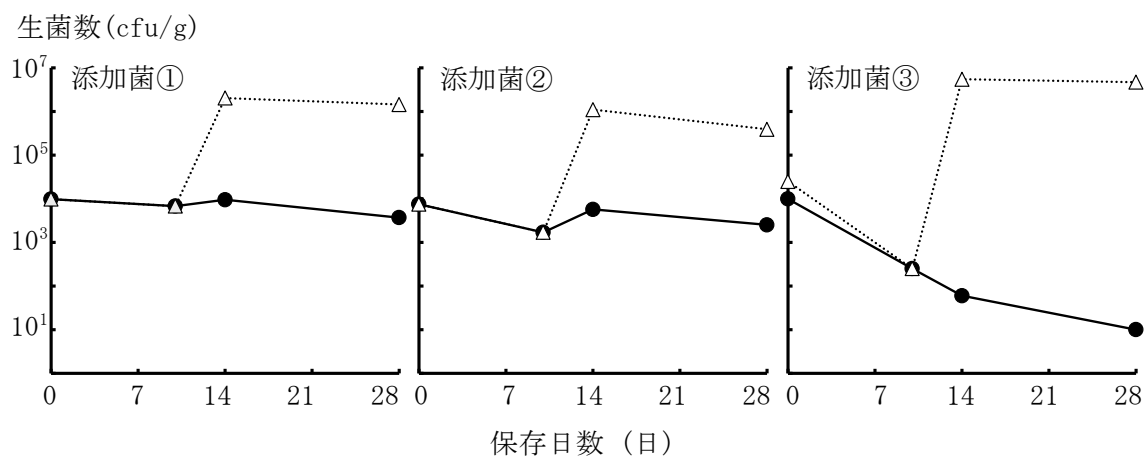


図3 性能評価 調査試料の生菌数の挙動

(●: 冷蔵試料、△: 常温試料)

表1 性能評価 調査試料の生菌数測定結果および定性試験結果

保管日数	添加菌①	添加菌②	添加菌③
接種菌液	1.2×10^6	4.7×10^5	8.4×10^5
A：冷蔵試料			
0（添加直後）	9.8×10^3	7.5×10^3	9.9×10^3
10	6.8×10^3	1.7×10^3	2.5×10^2
14	9.5×10^3	5.7×10^3	6.0×10^1
28	3.7×10^3	2.5×10^3	<10
B：常温試料			
14	2.0×10^6	1.1×10^6	5.5×10^6
28	1.4×10^6	3.9×10^6	4.7×10^6
定性試験判定 (0血清群別試験結果)	陽性 (H ₂ S産生-) (09群)	陽性 (H ₂ S産生-) (07群)	陰性 (該当なし)

生菌数の単位：cfu/g

定性試験は冷蔵試料の保存 0、14、28 日目の試料について実施し、添加菌ごとに全て同じ判定結果となった。

表2 パイロットスタディ用調査試料の品質評価（均質性確認試験）

配付用調査試料の生菌数測定結果および定性試験結果

調査試料	添加菌① 生菌数	添加菌② 生菌数	添加菌③ 生菌数
接種菌液	1.1×10^6	9.7×10^5	6.5×10^7
Sample1	1.0×10^4	6.9×10^3	3.0×10^5
Sample2	1.0×10^4	5.2×10^3	2.6×10^5
Sample3	1.1×10^4	6.6×10^3	2.2×10^5
Sample4	9.3×10^3	6.8×10^3	2.2×10^5
Sample5	9.2×10^3	5.3×10^3	3.9×10^5
生菌数平均値（添加濃度）	9.9×10^3	6.2×10^3	2.8×10^5
定性試験判定 (0血清群別試験結果)	陽性 (H ₂ S産生-) (09群)	陽性 (H ₂ S産生-) (07群)	陰性 (該当なし)
均質性確認試験の評価	均質である	均質である	均質である

生菌数の単位：cfu/g

定性試験は Sample1、5 について実施し、添加菌ごとに全て同じ判定結果となった。

各添加菌について、5 個の生菌数に大きな差が認められず、定性試験結果が性能評価と同様の結果を得られた場合に均質であると評価した。

表3 パイロットスタディ用調査試料の品質評価（安定性確認試験）

配付用調査試料の生菌数測定結果および定性試験結果

調査試料	添加菌① 生菌数	添加菌② 生菌数	添加菌③ 生菌数
Sample1	5.4×10^3	4.6×10^3	1.8×10^2
定性試験判定 (0血清群別試験結果)	陽性 (H ₂ S産生-) (09群)	陽性 (H ₂ S産生-) (07群)	陰性 (該当なし)
安定性確認試験の評価	安定であった	安定であった	安定であった

生菌数の単位：cfu/g

生菌数が計測でき、各添加菌の定性試験結果が均質性確認試験と同様の判定結果となったことからパイロットスタディ実施期間中の調査試料は安定であったと評価した。

表4 パイロットスタディ結果

添加菌	正答	機関数		正答率
		正	誤	
添加菌①	サルモネラ属菌陽性	36	14	72%
添加菌②	サルモネラ属菌陽性	49	1	98%
添加菌③	サルモネラ属菌陰性	49	1	98%

表5 パイロットスタディ経過記録書の集計結果

経験年数	0-1年		2-4年		5-9年		10年以上		
	14		10		11		15		
試料採取量	1 g		10 g		25 g				
	1		1		48				
前増菌培地*	実施せず		EEMブイヨン		mTSB（変法トリプトンソイブロス）		緩衝ペプトン水		
	1		1		1		47		
増菌培地*	実施せず		テトラチオン酸塩培地		ラバポート・バシリアディス培地		その他		
	1		48		47		2		
分離培地*	DHLA	MLCBA	XLDA	ES II A	BGA	CHS	SS寒天培地	X-SAL寒天培地	その他
	28	16	5	10	5	33	1	1	2
確認用培地*	実施せず		TSIA		LIMA		その他		
	2		48		47		4		
0血清群別試験	実施	実施せず							
	44	6							
生化学的性状試験*	実施せず	オキシダーゼ試験	クエン酸利用能試験	VP試験	ONPG試験	マロン酸利用能試験	その他		
	10	40	33	32	25	21	4		
簡易同定キット*	実施せず	API20E	IDテスト・EB-20	BBLクリスタルE/NF	rapid ID 32 E	Rapid 20 E	VITEK 2	その他	
	17	7	17	0	1	2	5	3	

※：複数回答あり

表6 0血清群別試験結果の集計結果（44機関実施、複数回答あり）

添加菌	正答	陰性判別不能	0多価	04群	06群	07群	09群	その他
添加菌①	09群	9	24	0	0	1	31	1
添加菌②	07群	1	28	1	0	38	1	
添加菌③	該当なし	42	0	0	1	0	0	2※

※：未実施

表7-1 パイロットスタディアンケート結果

外部精度管理調査のサルモネラ属菌検査用調査試料として、H₂S産生菌/H₂S非産生菌/サルモネラ陰性菌の3種から2種を採用するときの組み合わせについて

回答	機関数（全体比）	
どの組み合わせでもよい	26	(52%)
陽性菌と陰性菌の組み合わせであればよい	21	(42%)
H ₂ S非産生菌は採用しないほしい	3	(6%)

表7-2 パイロットスタディアンケート結果

サルモネラ属菌検査用調査試料についてのご意見、ご要望（抜粋）

「Q15. 検査結果判定の根拠」の補足…試料No. 1について0血清群別試験で09群（+）でしたが、TSI、LIMにて非定型反応が3項目でみられたため、今回陰性と判定しました。
試料1は2と比較し、DHL寒天培地及びクロモアガーサルモネラに生えた集落は小さく、発育が弱いと感じた。
この調査へ初参加できた。判定に苦慮したが検査技術向上に役立ったので参加機会を広げて欲しい。
硫化水素非産生のサルモネラは普段あまり扱うことがなく、今回は大変勉強になりました。しかし、当所において外部精度管理は経験年数の浅い職員がサルモネラの検査を学習する機会でもあるため、試料が2種類の場合は硫化水素を産生する定型的な菌を使用していただきたいです。
試料No. 2のシモンズクエン酸ナトリウム培地での反応が弱かった。
「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）」において「サルモネラ属菌は…クエン酸利用能陽性、…である」との記述があるが、クエン酸利用能試験で陰性を示すサルモネラ属菌も存在するようである。非定型的サルモネラ属菌を疑ったもののクエン酸利用能が陰性であった場合、どのように判断すればよいか苦慮している。
試料NO. 1について。陰性としたが、自己学習のためTSI寒天培地とLIM培地以外の生化学的性状試験を行ったところ、定型的なサルモネラ属菌の性状を示し、0血清型別で09群に凝集が認められ、市販の同定用キットでもサルモネラ属菌の可能性が示された。以上から、試料NO. 1もサルモネラ属菌である可能性があるが、本市では非定型の性状を2つ以上示した場合を陰性と判定することとしているので、陰性と判定した。
試料NO. 2について。運動性及びクエン酸利用能が弱く判定に苦慮した。クエン酸利用能については複数釣菌したうち24時間以内に陽性となったのは一部であった。サルモネラ属菌は、定型的性状から2個以上外れることは稀であるとされているため、精度管理で使用する株は、1つの非定型性状以外は明らかに定型的な性状であることが望ましい。
今回のNo. 1、No. 2のように生化学的性状が硫化水素産生性以外の性状においても定型外の株は判断が難しくなるため避けた方がよいと思います。
リジン（－）株も含めて欲しい。
硫化水素非産生菌の試験の機会をいただき大変勉強になりました。硫化水素非産生菌は現在国内での検出例は少ないと聞いていますが、報告書等に検出状況のデータを参考までに入れていただけると助かります。
今回の試料は判断が非常に難しかったが勉強になりました。報告書を楽しみにしています。