

厚生労働科学研究費補助金

食品の安心・安全確保推進研究事業

「畜水産食品の微生物等の試験方法
に関する研究」

平成17年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 宮原美知子

平成18（2006）年3月

目 次

- I. 総括研究報告
 - 畜水産食品の微生物等の試験方法に関する研究 1-6
宮原美知子
畜水産食品の微生物等の試験方法に関する研究の役割図
- II. 分担研究報告
 - 1. 標準検査法検討委員会運営 1-3
高鳥浩介
食品からの微生物検査標準法検討委員会名簿
食品からの微生物検査標準法検討委員会概要
“食品からの細菌検査標準法作成方針”を作る上でのポイント
食品からの微生物検査標準法検討委員会
第1回検討委員会 議事次第
食品からの微生物検査標準法検討委員会第一回議事録概要
食品からの微生物検査標準法検討委員会第一回議事録
第2回検討委員会 議事次第
食品からの微生物検査標準法検討委員会第二回議事録概要
食品からの微生物検査標準法検討委員会第二回議事録
第3回検討委員会 議事次第
食品からの微生物検査標準法検討委員会第三回議事録概要
食品からの微生物検査標準法検討委員会第三回議事録
第4回検討委員会 議事次第
食品からの微生物検査標準法検討委員会第四回議事録 (案)
 - 2. サルモネラ検査法 1-5
塚本定三
宮原美知子
結果表 1
参考資料 1
参考資料 2
参考資料 3
参考資料 4
参考資料 5
参考資料 6
参考資料 7
参考資料 8
参考資料 9

参考資料 10

参考資料 11

3. 腸炎ビブリオ検査法

1-5

甲斐明美

荒川英二

表 1

表 2

表 3

4. 黄色ブドウ球菌検査法

1-9

清水晃

五十君静信

表 1

表 2

表 3

表 4

表 5

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

1-2

I. 総括研究報告

厚生科学研究費補助金 (食品の安心・安全確保推進研究事業)
総括研究報告書

畜水産食品の微生物等の試験方法に関する研究

主任研究者 宮原 美知子 国立医薬品食品衛生研究所 衛生微生物部

第二室長

研究要旨 国内における細菌検査は、厚労省等からの通知文書と“食品衛生検査指針”を参考に行われているが、長期にわたり見直されることなくそのまま用いられている検査法が多く、実際の検査現場では“公定法”ないしは“標準法”は、しばしば独自に修正が加えられ無数の亜流の方法で行われている。そのため、国外の標準法のような規格化されたプロトコールに従った検査が、国内では行われていない現状がある。この是正を計るため、標準法検討委員会を組織し、現在、食品微生物検査法の問題点を整理し、今後どのような方針で検査法を作成したら良いのか議論を行った。その話し合いに基づき、サルモネラ、腸炎ビブリオと黄色ブドウ球菌について検査法の改変について検討を行ってきた。サルモネラの検査法については「標準検査法検討委員会」に提示が行われ、二度にわたり、討議が行われ、原案がまとまってきている。腸炎ビブリオについては2001年6月に食品衛生法施行規則に検査法が載せられており、比較的新しい検査法であるが、その問題点について討議を行い、今後より充実した検査法としていくための検討を行うこととなった。生鮮食品に対応した検査法の必要性の声が現場から多く集まっている。黄色ブドウ球菌に関して、現在の検査法が国内のみ適用される検査法であることから、現在世界的に見て、妥当である検査法へまた、現在の検査法を維持する場合には、その理論的根拠について検討することとなった。

A. 研究目的

現在、国際的に広く認められている細菌検査の標準法は、そのプロトコール作りの段階から内容を公開し、専門家や実際に検査を行う技術者の意見を広く求め、検査法案を策定した後、コラボスタディーにより、複数の検査室でその実行性の評価を経たのち、最終案がまとめられる。標準法ができた後も、常に修正が必要かどうかの検討が加えられ、必要とあれば速やかに修正が検討される。一方、国内における細菌検査は、厚労省等からの通知文書と“食品衛生検査指針”を参考に行われているが、長期に渡り見直されることなくそのまま用いられている検査法が多く、実際の検査現場では“公定法”ないしは“標準法”は、しばしば独自に修正が加えられ無数の垂流の方法で行われている。従って、国外の標準法のような規格化したプロトコールに従った検査が、国内では行われていないのが現状である。

本研究では、食中毒起因細菌の標準となる検査法がどの様にあるべきかを議論し、その方向性を示し、その方針に沿って具体的に3つの細菌について細菌検査の標準法の策定を試みることを目的とする。サルモネラ・腸炎ビブリオ・黄色ブドウ球菌について下記の必要から、検査法の検討を行うことになった。サルモネラの検査法は乳および食肉製品についてはEEM培地前増菌から、セレナイトシスチン、セレナイトブリリアントグリーンあるいはハーナのテトラチオン酸塩培地での選択培養そしてMLCB又はDHL培地への塗抹などにより検出することになってい

る。しかし、セレンおよびその化合物は化学物質管理促進法では毒性があるので管理すべきとして指定され、排出量の管理が必要となっている。そのため、世界的にみてもサルモネラの検査法から、セレナイト化合物は排除されるようになってきている。わが国においても、1998年11月25日に通知された液卵のサルモネラ属菌試験法については、BPW培地の前増菌から、RVとTT培地での選択培養、そして2種類の選択分離培地への塗抹での検査を通知している。そうした状態を改善し、適正な検査法を検討することを目的としている。腸炎ビブリオは日本では従来の04:K8血清型から、インド・東南アジア1996年頃からの03:K6血清型腸炎ビブリオ食中毒の流行が日本でも03:K6血清型腸炎ビブリオが1998年に大流行となった。これを受けて、研究と検査体制が生まれ、2001年6月7日あるいは同年6月29日付けで食品衛生法施行規則に腸炎ビブリオの検査法が取り込まれた。この検査法は生で食する生鮮魚介類、ゆでかき、ゆでたこあるいは冷凍魚介類の腸炎ビブリオの検査法を明記しているが、3～4日の検査日数が必要であることから、実際の製品規格のための検査が行われても商品そのものに検査結果が反映されないことがあり、多くの商品取扱者から検査法の短縮化の要望がなされている。黄色ブドウ球菌については、わが国においては3%食塩マンニット寒天培地による検査が行われている。黄色ブドウ球菌では増菌は行わず、主に食品の10倍乳剤を寒天培地に塗抹して検査を行う。3%食塩マンニット寒天培地は食塩

に対して感受性のある黄色ブドウ球菌は検出されないと思われる。世界的な検出寒天培地は、ベアード・パーカー寒天培地が主流となっている。この辺りの世界的な検査法との整合性が検査法に求められていると思われる。

どの菌の検査法においても、日本独自の検査法を「よし」とするにしても、科学的な裏付けと多くの関係者の同意が必要であると考えられる。科学的な検証とそれに基づいた多くの人の合意形成がこの研究班の目的である。

B. 研究方法

18名の食品微生物の専門家と2名の行政官（オブザーバー）で構成する“標準法検討委員会”を組織し、現在の食品からの微生物検査法の問題点を整理し、今後どのような方針で検査法を作成したら良いかの議論を行った。（4回目から、2名の専門家を増やし、現在、総勢22名の構成員となっている。）ここでの議論を基に、標準法作成ガイドラインを策定し、3菌種につき、具体的なプロトコール作成に取りかかった。研究方法概要の図を示した。各作業部会が部会案を検討して、標準法検討委員会に示し、意見をうかがう。何か問題が判明した場合には、作業部会で実験等の検討を行い、その結果をもって、検出法案を標準法検討委員会に示し、納得のいく検討であったならば、国立衛研ホームページあるいは各学会誌等にその検出法を提示する。一定の提示期間後に、集まった意見を参考に再び検出法を検討し、コラボ等を行える研究系を提示し、参加者を募る。作業部会を中心にし

てコラボ研究を運営し、結果を出す。その結果を作業部会によりまとめ、標準法検討委員会に提示する。そこで、納得がいく結果であったならば、その結果とともに、その検出法を作業部会案と同様に国立衛研ホームページあるいは各学会誌等にその検出法を提示する。

以上のやり方を、上記3菌種について行い、それぞれの検出法について、科学的な検証とそれに基づいた多人数合意のなされた検査法として、公表していく。

（倫理面への配慮）

特になし

C. 研究結果

4回の委員会開催により、標準法作成の方向性を決定し、検査法作成ガイドライン案を作成、現在、委員会の議事録概要とガイドライン案を現在国立医薬品食品衛生研究所のホームページに載せて公開しており、広く意見を求めている。ホームページの情報公開をクリックし、食品からの微生物検査標準法の検討をクリックすることにより、見る事ができる仕組みになっている。また、下記のサイトに直接情報が載せてあるので、広く意見を寄せていただくことを期待している。
<http://www.nihs.go.jp/fhm/kennsahou-index.html>

サルモネラ作業部会では、最初に、作業班を組織した。6名の構成メンバーで成り立っている。そこで、①現在使われている、国内外の検査法を収集し、検査法を比較検討することにより、それぞれの検査法の問題点について検討を行った。

②それらの検査法の中から、今後日本の標準法として妥当であると思われる検査法について討議した。③その討議の中から選択した検査法について、各段階で設定すべき条件について討議した。④サルモネラの検出といっても、腸チフスとパラチフスを除いたサルモネラ属についての検出法として設定する。⑤菌の確認法については TSI と LIM 培地での確認後、0 多価および 01 多価免疫血清での確認を行い、サルモネラの同定後に、0 群血清型を決定する。以上について検討を進め、標準法検討委員会に二度にわたる検査法の提案を行った。標準法検討委員会での了承を得た案がまとまったので、今後ホームページへの停止や各学会等への公開を行っていくことにしている。

腸炎ビブリオ作業部会では、まず検査法作成にあたっての基本方針について検討した。本作業部会で検討するのは、「食品衛生の確保を目的とした検査法」であり、① 標準法（すべての検査法の基礎となる培養法）と ②迅速診断法（標準法に比べて、時間的に短縮でき、標準法と同等、あるいはそれ以上の精度の確保が必要）を作成する。また、基本指針として、①食中毒検査ほどの感度は必要なし、②実行性があること、③経費、④どこでも検査可能であること等について合意に達した。次に、現行法の中で、検査対象菌、検査に要する日数、増菌培養法等 14 項目についての問題点を整理した。さらに、日本の「食品衛生検査指針」、米国 FDA の「Bacteriological Analytical Manual (BAM, 2004)」、スイスの International Organization for Standardization が

提供している「International Standard (ISO) 8914, 1990」を、比較検討すべき世界的な方法と考え、具体的な検査法の比較検討を行った。次年度からは、今年度整理した問題点等に関する実験を行い、検討することにより、望ましい検査法の作成を図る。

黄色ブドウ球菌の作業部会では、黄色ブドウ球菌検査法の標準化に向けて、検査法試案を作製するに当たって考慮すべき点を、検体のサンプリング方法、分離培地（選択分離培地、増菌培地など）、培養温度と培養時間、黄色ブドウ球菌同定法、遺伝子検査法の導入など、これまでの日本及び外国での文献検索などして、現状把握をし、問題点を整理している。また、黄色ブドウ球菌検査法の標準化に向けての基礎資料を得るために、実験を行っており、以下のことを明らかにしている。

- 1) 市販食肉 10g を秤量し、滅菌生理食塩水 90ml を加え、ストマッカー処理した 10%試料 0.1ml を、3%卵黄加マンニット食塩寒天培地に接種した直接平板培養法と、MPN 法（3本法）による選択増菌培養法の比較実験では、検体から黄色ブドウ球菌を確実に検出するには直接平板培養法だけでは不十分で、選択増菌培養法が必要であること示している。
- 2) 試料 25g の比較実験でも、同様の結果を示している。
- 3) また、多数の検体を短時間で行う方法として、拭き取り法を検討した。肉表面を滅菌綿棒でこすり、直接 3%卵黄加マンニット食塩寒天培地に塗抹す

る直接培養法と、同綿棒を選択増菌培地に入れ、増殖させる増菌培養法を比較し、検出率は増菌培養法で著しく上昇した。

- 4) 現在、選択分離培地 (Baird-Parker 培地、3%卵黄加マンニット食塩寒天培地など) の比較、増菌用培地の組成、PCR法などについて、検討中である。

D. 考察

標準法検討委員会が軌道に乗り、そこでの議事録概要が国立医薬品食品衛生研究所のホームページに載るようになった。これに対し、意見等を寄せられたケースはまだ無いが、今後具体的な検査法の提示によって、多くの方の意見が寄せられることを期待しているところである。今までの検査法が、一部の専門家の合意のみで決定されていたことから考えると今回の試みは有意義に働くことを期待するものである。また、多くの専門家の意見も標準法検討委員会の論議を通して吸収していることから、多くの同意が得られる検査法が構築されることになると思われる。3つの菌種についての検査法を同時進行させていることから、今後、コラボ等に参加していただく機関を募るときに、混乱が起きることの無いように時期等を考えていく予定である。

E. 結論

食品のサルモネラ検査法に関してはその検査法原案をホームページに載せるところまで進行してきている。今後、腸炎ビブリオと黄色ブドウ球菌についても作業班での検討を進行させて、原案提出ま

で急ぎたいと考えている。

F. 健康危害情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

○ Michiko Miyahara: Simultaneous enrichment Detection Method for Four Types of Pathogenic Bacteria in Food. *Biocontrol Science*, (2005), 10, 91-96.
Kitai, S., ○Shimizu, A., Kawano, J., Sato, E., Nakano, C., Uji, T. and Kitagawa, H. (2005): Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from retail raw chicken meat in Japan. *J. Vet. Med. Sci.*, **67**(1), 107-110.

Kitai, S., ○Shimizu, A., Kawano, J., Sato, E., Nakano, C., Kitagawa, H., Fujio, K., Matsumura, K., Yasuda, R. and Inamoto, T. (2005): Prevalence and characterization of *Staphylococcus aureus* in retail raw chicken meat throughout Japan. *J. Vet. Med. Sci.*, **67**(3), 269-274.

Fukuda S, Tatsumi H, ○Igimi S, Yamamoto S. 2005. Improved bioluminescent enzyme immunoassay for the rapid detection of *Salmonella* in chicken meat samples. *Letters in Applied Microbiology*. **41**:379-384.

Terai S, Yamasaki M, ○Igimi S, Amano F. 2005. Expression of SEp22, a pathogenicity - related protein of *Salmonella* Dps, in *Salmonella*

enterica serovar Enteritidis isolated from the poultry farms in Japan. Bioscience and Microflora. 24:113-118. Asakura H, O Igimi S, Kawamoto K, Yamamoto S, Makino S. 2005. Role of in vivo passage on the environmental adaptation of enterohemorrhagic Escherichia coli O157:H7: Cross-induction of the viable but nonculturable state by osmotic and oxidative stresses. FEMS Microbiology Letters, 253, 243-249.

T. HASEGAWA, Y. YOSHIDA, J. KOSUGE, T. HAGA, Y. GOTO, T. SHINJO, K. UCHIDA, R. YAMAGUCHI, S. TAKEYAMA, O.K. TAKATORI: Subcutaneous granuloma associated with Macrophomina species infection in a cat. The Veterinary Record, (2005), 156, 23-24.

小西典子, 尾畑浩魅, 八木原怜子, 下島優香子, 柴田幹良, 畠山 薫, 鈴木 浩, 池内容子, 秋場哲哉, 門間千枝, 矢野一好, 甲斐明美, 諸角 聖: 東京湾の海水, 海泥および貝からの病原ビブリオ検出と分離菌株の諸性状, 日食微誌, 22: 138-147, 2005.

尾畑浩魅, 下島優香子, 小西典子, 門間千枝, 矢野一好, 甲斐明美, 諸角 聖, 福山正文: 腸炎ビブリオ食中毒事例における PCR 法を用いた食品からの耐熱性溶血毒 (TDH) 産生菌の分離, 日本感染症学雑誌, 投稿中, 2005.

2. 学会発表

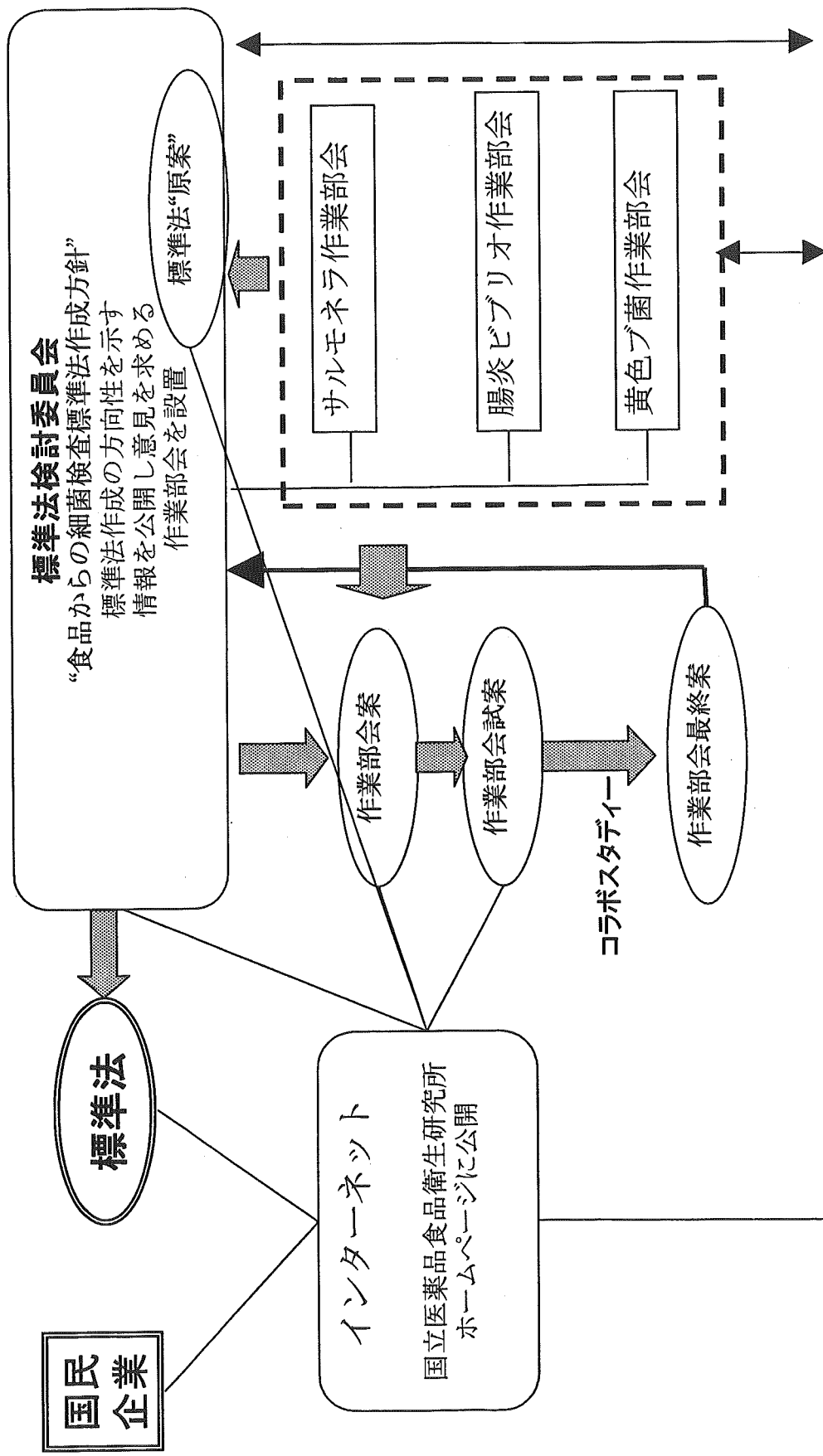
宮原美知子(2005): 市販鶏挽肉でのサルモネラとリステリアの検出検討
第26回日本食品微生物学会学術総会

平成17年11月

中野千紗、清水 晃、河野潤一、北川 浩、松村浩介、藤尾公輔、北井 智 (2005): 人・家畜・家禽の鼻腔におけるエンテロトキシン (SE) 産生黄色ブドウ球菌及び MRSA の保菌状況と分離株の性状解析、第140回日本獣医学会学術集会講演要旨集、p. 141

H. 知的財産権の出願・登録状況
特になし

畜水産食品の微生物等の試験方法に関する研究



国立研究機関、大学、都府道県衛生研究所、食肉検査所、登録検査機関、検疫所等

II. 分担研究報告

1. 標準検査法検討委員会運営

食品からの微生物検査標準法検討委員会

分担研究者 高鳥 浩介 国立医薬品食品衛生研究所 部長

研究要旨

食品からの微生物検査標準法検討委員会を招集し、微生物検査の方向性はいかにあるべきかの議論を行い、今後の微生物標準検査法作りの方向性を示した。その方向性に従って、それぞれの標準検査法を作成することになった。検討委員会では、検討した要点をまとめた検査法作成のガイドライン作成を行い、サルモネラ、腸炎ビブリオ、黄色ブドウ球菌の3菌種について作業部会を作り、ガイドラインに従った標準法作成を開始した。検討委員会はこれらの標準検査法の作成を行うと共に、現在研究班以外で行われている微生物の検査法についても、ガイドラインに従った手順で検査法が作られる様に働きかけることにした。

検討委員会事務局

国立医薬品食品衛生研究所

食品衛生管理部 五十君 静信

朝倉 宏

吉岡 宏美

石和 玲子

A. 研究目的

食品からの微生物検査標準法検討委員会で、わが国における食品の細菌検査標準法はどうあるべきかを議論し、その方向性を示す。この方向性に沿った標準法作成のガイドラインを作成し、サルモネラ、腸炎ビブリオ、黄色ブドウ球菌の3菌種について標準法作成を試みる。

B. 研究方法

これまでに、食品衛生微生物の分野で中

心となり微生物検査に関する実績のある研究者 20 名を“食品からの微生物検査標準法検討委員”として迎え、行政官 2 名が加わり、4 回の委員会を開催した。委員会では、これまでの微生物検査法にかかわる問題点を整理し、今後の検査法のあり方に関する議論を行った。検討委員の名簿は、別紙に示す。

C. 研究結果

委員会でこれまでの食品における微生物検査法にかかわる問題点を整理した。これまでわが国の食品の細菌検査は、厚労省からの通知法、告示法および食品衛生検査指針をもとに行われてきた。通知法、告示法は長期に渡り見直されることなくそのまま用いられているものがある。検査法策定に

あたってはその作成過程は公開ではなかった。通知法、告示法の無い細菌においては、食品衛生検査指針の検査法が用いられることが多いが、検査指針の原稿は執筆担当者に任されており、指針の版を改めるたびに、その実行性の評価を受けることなく検査法を書き換えている状況である。さらに、最新版では、市販の簡便法キットが培養法と同列に紹介されている。サルモネラの検査法の様に、通知により検査方法が、異なっているものもある。

一方、国際的に広く認められている食品の細菌検査法は、そのプロトコール作りの段階から、多くの専門家や、実際に検査を行う技術者の意見を広く求め、検査法案を策定し、コラボスタディーにより、複数の検査室で実行性の評価を行ったのち、最終案がまとめられている。さらに、一度作成された検査法も常に修正が必要かどうかの検討が加えられている。検討委員会では、わが国の標準法作成に当たっては、このような手法をどのように取り入れてゆけば、より良い検査法ができるであろうかの議論を行い、“標準法”作成に当たって守るべき重要な箇所を検討し、標準法作成の注意点をまとめた。細菌検査法策定にあたってのポイントは以下のようである。

1. 最も基準となる標準的な細菌検査方法は、培養法である。
2. 検査法作成に当たっては作成段階から公開とし、その妥当性を、多くの専門家や技術者に意見を求める。
3. 検査法ができあがる段階で、その実行性について複数の検査室で実行し評価を受ける。
4. よりよい検査法として、必要であれば、

常に見直しを行い2～3の手順に従い修正を加える。

5. 国際的に認められている検査法との互換性や、同等性を尊重する。

このポイントをまとめたのが、添付の“食品からの細菌検査標準法作成方針”である。この作成方針に従い、サルモネラ、腸炎ビブリオ、黄色ブドウ球菌の3菌種について作業部会を組織し、標準法作成を開始した。検討委員会自体の透明性を示すために、委員会の議事録要旨は、国立医薬品食品衛生研究所のホームページに公開している。

D. 考察

これまで国内の食品における微生物検査法は、作成段階が公開されておらず、実際に検査を行う立場の人の意見が反映されにくかった。検査法によってはほとんど見直しの行われていないものもあり、海外の検査法では、ほとんど用いられなくなっている培地を依然として使っている場合もあり、国際的な互換性に関しても難しいところがあった。検討委員会では、このような問題点を議論し、培養法による標準法を持つことが必須であることが合意された。この標準法作成にあたっては、添付の様な“食品からの細菌検査標準法作成方針”に従い行われることが重要で、研究班では、サルモネラ、腸炎ビブリオ、黄色ブドウ球菌の3菌種について作業部会を組織した。それぞれの作業部会が海外の標準法の比較表の作成を行い、標準法作成を開始した。標準法作成は、作業部会と委員会を行き来しながら検査法案をインターネットや文書で公開しながら、ステップアップして行くことになる。

原案作成のステージ1では、作業部会が文献調査や情報収集を行い、関連する国際的な標準法の比較表を作成し、国際的な互換性を尊重する。これらの準備された資料を基に委員会で原案を作成し、この段階でインターネットで一般に公開、文書で関連組織に公開する。これにより形だけの情報公開になることは避けられるものと思われる。

ステージ2では、原案への意見や作業部会での議論から、実際に実験を行い、検査法としての細かいプロトコルの検討をおこなう。実験データに裏付けられた作業部会案が出来ることとなる。

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

最終ステージは、コラボの結果を確認し、問題がなければ、標準法とする。このとき、以後検査法の特定が容易な様に検査法毎に固有の番号を付ける予定である。

これらの各ステージは、今後実際の検査法を作りながら問題点を検討して行き、修正を加えさらにより実行性の高い方針とし

て行く。

E. 結論

食品からの微生物検査標準法検討委員会を組織し、わが国における食品の細菌検査標準法はどうあるべきかを議論し、その方向性を示した。この方向性に沿った“食品からの細菌検査標準法作成方針”作成し、サルモネラ、腸炎ビブリオ、黄色ブドウ球菌の3菌種について標準法作成を開始した。

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

なし

検討委員会の動向は、以下の国立医薬品食品衛生研究所のホームページに公開している。

<http://www.nihs.go.jp/fhm/kennsahou-index.html>

食品からの微生物検査標準法検討委員会名簿

| | | |
|------|---------|------------------------------------|
| 委員長 | 山本 茂貴 | (国衛研・食品衛生管理部) |
| 副委員長 | 高鳥 浩介 | (国衛研・衛生微生物部) |
| 委員 | 浅尾 努 | (大阪府立公衆衛生研究所・日本食品微生物学会) |
| | 荒川 英二 | (国立感染研・細菌第一部) 作業部会 |
| | 五十君 静信 | (国衛研・食品衛生管理部) 事務局、作業部会 |
| | 伊藤 武 | (財団法人東京顕微鏡院) |
| | 甲斐 明美 | (東京都健康安全研究センター) 作業部会 |
| | 春日 文子 | (国衛研・食品衛生管理部) |
| | 小久保 彌太郎 | (社団法人日本食品衛生協会) |
| | 小崎 俊司 | (大阪府立大学 農学部) |
| | 品川 邦汎 | (岩手大学 農学部) |
| | 清水 晃 | (神戸大学・農学部) 作業部会 |
| | 田中 廣行 | (財団法人日本食品分析センター) |
| | 塚本 定三 | (大阪府立公衆衛生研究所) 作業部会 |
| | 藤井 建夫 | (東京海洋大学 海洋科学部) |
| | 松岡 英明 | (AOAC International Japan Section) |
| | 丸山 務 | (社団法人日本食品衛生協会) |
| | 宮原 美知子 | (国衛研・衛生微生物部) 研究班長、作業部会 |
| | 森 曜子 | (財団法人日本冷凍食品検査協会) |
| | 渡辺 治雄 | (国立感染研・副所長) |
| 行政から | 道野 英司 | (厚労省・監視安全課) |
| | 近藤 卓也 | (厚労省・基準審査課) |

食品からの微生物検査標準法検討委員会概要

微生物検査標準法検討委員 殿

委員会事務局

これまでの経緯

平成17年度から、厚生労働科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進研究事業）“畜水産食品の微生物等の試験方法に関する研究”（主任：宮原美知子）が開始されました。本研究では、国内における食品からの細菌検査の標準的な方法を検討し、今後細菌検査法がどの様にあるべきかを議論し、基準となる細菌検査法である“標準法”を策定することを目的としています。本研究班では、上述の目的に沿って、実際に、サルモネラ属菌、腸炎ビブリオおよび黄色ブドウ球菌につきまして、食品からの標準検査法作成を試みる予定であります。

一方、これまでわが国の食品の細菌検査は、厚労省からの通知法および食品衛生検査指針をもとに、行われてきました。通知法は長期に渡り見直されることなくそのまま用いられているものもあります。その検査法策定にあたっては公開ではありませんでした。通知法の無い細菌においては、食品衛生検査指針の検査法が用いられることが多いわけですが、検査指針の原稿は執筆担当者に任されており、指針の版を改めるたびに、その実行性の評価を受けることなく検査法を書き換えている状況です。食品の細菌検査法の信頼性を向上させ、バリデーション可能な検査法として広く使われるためには、食品の検査法はどうあるべきであるかの議論を行ったうえで、その方向性を確認する必要があると考えました。食品の細菌検査に関係する専門家を集め、食品の微生物検査標準法はどうあるべきかを議論し、標準検査法作成のガイドラインを作成し、今後の食品の細菌検査の方向性を示すために、“食品からの微生物検査標準法検討委員会”を立ち上げることになりました。

検討委員会が議論する議題

わが国における食品の細菌検査標準法はどうあるべきかの方向性を示すのが目的です。現在、国際的に広く認められている食品の細菌検査法は、そのプロトコール作りの段階から、多くの専門家や、実際に検査を行う技術者の意見を広く求め、検査法案を検討し、コラボスタディーにより、複数の検査室で実行性の評価を行ったのち、最終案がまとめられています。さらに、一度作成された検査法も常に修正が必要かどうかの検討が加えられています。わが国の標準法策定に当たっては、このような手法をどのように取り入れてゆけば、より良い検査法ができるであろうかの議論を行い、“標準法”策定に当たって守るべき重要な箇所を検討し、標準法作成の注意点をまとめたガイドラインを作りたいと考えています。細菌検査法策定にあたっての議論のポイントは以下のように考えています。

1. 最も基準となる標準的な細菌検査方法は、培養法である。
2. 検査法作成に当たっては原案作成段階から公開とし、その妥当性を、多くの専門家や技術者に意見を求める。

3. 検査法ができあがる段階で、その実行性について複数の検査室で評価を受ける。
4. よりよい検査法として、必要であれば、常に見直しを行い2～3の手順に従い修正が加えられる。
5. 国際的に認められている検査法との互換性や、同等性を尊重する。
6. その他

このような検討により期待される効果

食品の細菌検査の基準となる“標準法”を持つことは、主に以下のようなメリットが考えられると思います。

1. 食品の細菌検査法が、その作成段階から公開されることにより、より多くの人から意見を求めることができ、より良い検査法策定が期待できる。
2. 最終検査法は、多くの実験室の評価を受け、実行性が担保された方法となる。
3. プロトコールに従って検査を行えば、適切な精度での細菌検査が期待されると共に、検査技術の精度に関する評価を行うことが可能である。
4. 規格化された“標準法”は、他の検査法の尺度として使えるようになり、今後開発される食品のリスクマネジメントに適した迅速法や簡便法などの評価を、標準法を尺度として行うことができる。
5. 標準法と同等以上の精度や感度であると確認された迅速法は、それに準ずる方法と考えることができ、それぞれの目的に適した検査法が広く利用できる道を開くことになる。
6. より簡便でコストの安い優れた迅速検査法を開発するメリットが見えることにより、さらに優れた食品からの微生物検査法の開発を活性化する。

検討委員会が作るガイドラインに従って、食品の微生物検査の標準法が策定されれば、これにより、今後新規に開発される微生物検査法をこの標準法と比較することが可能となり、同等ないしはそれ以上の正確さで微生物を検出可能であるかについて客観的に評価する尺度が確立します。この尺度の確立により、必ずしも菌の分離を必要としない食品のリスクマネジメントに適する迅速検査法の評価が可能となります。培養法では不可能であった検査の迅速化を期待できる分子生物学的手法を応用した検査法の導入が可能となり、よりすぐれた迅速高感度な検出法の開発の活性化が期待されます。

“食品からの細菌検査標準法作成方針”を作る上でのポイント

原案（ステージ1）：標準法検討委員会（親委員会）は、作業部会を立ち上げる。作業部会は文献調査や情報収集により、関連する国際的な標準法の比較表を作成し、それを基に“原案のたたき台”を親委員会に提出する。親委員会では、このたたき台を議論し、当該検査法の方向性を確認した上で、原案としてまとめる。その作成方針を含めて、インターネット上に公開、期間を設定し意見を求める。ここで、文書にて第三者組織（食品微生物学会や、衛生微生物技術協議会等）の意見を求める

作業部会案（ステージ2）：各作業部会は、国立研究機関、大学、地方衛生研究所、食肉検査所、登録検査機関、検疫所等の協力を受けながら原案の検討箇所を設定し、実験データから細かいプロトコルの検討を行い、重要な指摘がある場合はそれを考慮した“作業部会案”を作成する。作業部会案は、親委員会に提出するとともに、一定期間インターネット上で公開し広く意見を求める。さらに、第三者組織の意見を求める。

コラボ実施案（ステージ3）：インターネットや第三者組織の意見などを参考とし、親委員会は作業部会案について議論し、作業部会試案とする。コラボスタディーの規模や協力施設の数等を示し、インターネット上で公開し、意見を求める。コラボスタディー参加者を募る。

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

さらに親委員会は、方針通りに作業部会が機能したかを確認し、不備な点があれば、“食品からの細菌検査標準法作成方針”の見直しを行う。

平成17年度厚生労働科学研究費補助金 食品の安心・安全確保推進研究事業
畜水産食品の微生物等の試験方法に関する研究（H17-食品-009）

食品からの微生物検査標準法検討委員会

第1回検討委員会 議事次第

日 時： 平成17年10月4日（火） 14:00～17:00
会 場： 国立医薬品食品衛生研究所 11号館3階講堂

1. はじめに（山本委員長、高鳥副委員長）
2. 行政担当官からの発言（近藤専門官）
3. 検討委員自己紹介
4. 食品からの微生物検査標準法検討委員会概要の説明（事務局）
5. 討論
検討委員会における議事内容の調整
標準法作成ガイドラインの作成
6. その他、事務連絡等