

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

1. 本委員会設立の経緯を確認
2. 本委員会は予算上、当面厚労科研費の研究班に属する。
3. 研究班は、3年間でサルモネラ、腸炎ビブリオ、黄色ブドウ球菌の3菌種の標準検査法を策定する
4. 本委員会は、食品の微生物検査の標準法策定の方向性を示すことを目的とする
5. 上述の目的を具体化するには、検査法策定指針などの策定が必要である
6. 本委員会の議論は、上述3菌種に限定せず、今後の食品の微生物検査の標準法策定に広く応用できるものとする
7. 標準法としては Matrix として特殊なものを規定せず、汎用性の効く方法を考慮して策定し、食品等による固有な方法論は別に記載する。
8. 食品の微生物検査と食中毒の検査は、方向性が異なる
9. 標準法、告示法、検査指針のあり方は今後考えなくてはならないが、本委員会は当面試験法そのものの内容について主に議論してゆく。
10. 標準法策定の方向性を統一していくには、責任の所在をはっきりとした方が良い
11. 食品からの微生物検査標準法の策定は国立衛研が担当すると思われるが、本委員会の位置づけやどのような支援体制をとるべきであるかは今後の議論が必要
12. 本委員会と実際に個々の検査法を検討する作業部会の役割分担を今後どの様にして行くか
13. 標準法を培養法ベースとした場合、腸炎ビブリオのような迅速性を要求されているものをどのように考えてゆくか
14. 次回までに検査法策定に当たっての問題点を提出してもらい、議論を行う
15. 次回は、検査法のプロトコールをどのように決めていったらよいかにつき議論を行う

「食品からの微生物検査標準法検討委員会」第一回委員会議事録

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

出席者

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	渡辺 治雄	(国立感染症研究所・副所長)
	宮原 美知子	(国衛研・衛生微生物部) 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
	荒川 英二	(国立感染症研・細菌第一部) 作業部会
	清水 晃	(神戸大学・農学部) 作業部会
	甲斐 明美	(東京都健康安全研究センター) 作業部会
	塚本 定三	(大阪府立公衆衛生研究所) 作業部会
	丸山 務	(社団法人 日本食品衛生協会)
	小久保 彌太郎	(社団法人 日本食品衛生協会)
	藤井 建夫	(東京海洋大学)
	浅尾 努	(日本食品微生物学会、大阪府立公衆衛生研究所)
	伊藤 武	(財団法人 東京顕微鏡院)
	田中 廣行	(財団法人 日本食品分析センター)
	森 曜子	(財団法人 日本冷凍食品検査協会)

行政から

近藤 卓也 (厚生労働省・基準審査課)

欠席者

	春日 文子	(国衛研・食品衛生管理部)
	松岡 英明	(東京農工大学・工学部、AOACI Japan Section)
	道野 英司	(厚生労働省・監視安全課)

議事

1. はじめに (山本委員長、高鳥副委員長)

(山本) 本日はお忙しい中お集まりいただきましてありがとうございます。早速、本委員会第一回の会議を始めたいと思います。まず、本委員会の立ち上げの経緯についてご説明いたします。厚生労働科学研究費食の安全・安心推進研究事業の一環として、当所衛生微生物部の宮原第二室長を研究班長として始まった微生物試験法、特に畜産水産物からの微生物検出検査について議論がなされ、そのベースを構築することが基本的ながら最も重要という考えに終結されました。しかし、当研究班のみでこれを行えば、独断的ともなりかねない。これを議論する場の必要性が挙

げられたことから、今回の検討委員会の設立となった。今回は病原微生物の中でも、食品からの検出という面からの重要性を鑑み、サルモネラ、黄色ブドウ球菌、腸炎ビブリオを対象として考えている。標準法としての考え方をきちんと整理した後に、これらを全国に幅広く普及させるためにも、本委員会では忌憚ない意見を出して頂き、これを集約して形としていきたい。

(五十君) 配布資料の確認

(山本、高鳥)

ある意味でもっとも妥当であるが、なぜ今このような問題が出てきているのか、忌憚ない意見をこの検討委員会でだしてもらいたい。現在、行われている方法は、一本化されていないことも多く、感度・精度の両面を担保できているかということと必ずしもそうでもない。食品からの検出法の最も重要な部分がまだ煮詰まっていないということは、今がこれを補正する契機として適当であると思う。そのあたりの部分について協力して議論を行い、最終的に厚生労働科学研究に寄与できればと願っている。現実にある意味で標準検査に準ずるものとして動いている、食品衛生検査指針が必ずしも全員の合意を得られているものではなく、よりオープンに議論ができることが重要と思います。

2. 行政担当官からの発言(近藤専門官)

(近藤) 厚生労働科学研究費補助金事業として、これからお世話になります。食中毒につきましては、依然として微生物関連がその主体であり、我々としても微生物のコントロールを非常に重要な課題として認識している。ご協力のほどお願いしたい。

3. 検討委員自己紹介

略

(高鳥) 山本委員長が食品安全委員会へ出席のため、退席となり、座長を交代する。本日はこの後もフリーに意見交換を行い、この会の方向性を決めていければと思う。

4. 食品からの微生物検査標準法検討委員会概要の説明

(高鳥) 本委員会がどのように動くのかということについて、五十君室長より紹介します。

(五十君) お手元の資料3ページ目をご参照ください。厚生科研の研究班会議においては3菌種について食品からの検査法の検討を開始しました。その前提として、標準法とは何であるのかということについて、改めて検討し、海外に出しても遜色ない検査法を作成する方向性を確認しました。一方、いろいろな問題もあります。その代表的なものが、通知法の立場、検査指針の立場、そして標準法とは何かといった課題である。従って、検査法を作成するに当たっては、これらを整理したうえで信頼性の高い標準となる検査法の方向性を議論し、方法論を構築できればと思います。最前線でこれまで見識を培ってこられた専門家の皆様に、微生物の標準検査法はどのようにあるべきかということに立ち戻り、どのように検査法を作成したら良いのか、標準法作成手順のマニュアル又はガイドラインを本検討委員会の場で作製していただくことで、方法論の検証へとつながっていくと考え、委員会を設立させていただいた次第である。標準検査法において最もベースとなるものは培養法と考えており、オープンな意見交換によりプロトコールを作成していくことを重要視していきたいと考えている。海外の標準法との互換性に関しても本委員会での検討により最終的なものがでてくると期待している。これにより、標準法の作製手順が確立し、そ

れに従った検査法が作られることは微生物検査法のこれまでかかえていた多くの問題が解決する糸口となると思われる。作られる標準法が他の検査法を評価する尺度となり、それと同等以上の精度や感度の検査法の導入を可能とすることになる。培養法では困難な迅速簡便性検査法プロトコルの評価が可能となる道を開き、迅速簡便法の導入を可能とし、食品における微生物のリスクマネジメントに応用されることとなる。

(高鳥) 資料の確認ならびに要約したお話と思う。他に意見ありますでしょうか？

(丸山) 基本的な確認事項として、厚生科研の畜水産食品の微生物検査法を受けた委員会設立のお話が冒頭にありましたが、ここには食品からの微生物とあります。これは対象食品が違うようにも受け取れる。研究班と検討委員会との枠組みはどのようにお考えなのか？

(五十君) 厚労科研研究班においては、対象微生物として、畜水産物を広く汚染している 3 菌種にしぼり、検査法を構築することを目的としている。この 3 菌種の検査法について個別に作成するならば、今までと同様、単に一部の専門家の集まりによって策定される検査法となる可能性は否めない。検討委員会の設立は、今後作成される微生物検査法の方向性を統一するもので、研究班の中にはいるが、それにとどまらない。検査法策定のよりどころとなるようなものを議論していただきたい。当面は当該微生物の方法論策定に当たりたい。

(丸山) 3 菌種の選択は間違いはないと思うが、3 年間でのさらに菌種を拡大していくということは当初よりいわれてきたがどうか？

(五十君) 将来的には広げていきたい。

(伊藤) つまり研究班としてのみではなく、もう少し広いビジョンでとお考えなのか？

(五十君) 予算枠の関係上、現在はそうなっているが、議論としてはもっと広く、食品検査法全体に応用されるように考えている。

(伊藤) 厚労科研以外でも予算枠は将来的にはとれるとは思う

(五十君) これでガイドラインが策定できれば、今後とも予算枠はとっていきたい。

(渡辺) 食品からの検査については、いろいろ行われている一方で、やりっぱなしというくらいは否めない。これまでの説明の中で、検査指針との関係について謳っているが、本研究での成果がこれに反映する可能性があるのか？もしそうであるならば、やったことがいきてくると思う。せっかくの研究班なので、いかしていければと願う。

(五十君) 今までの厚生科研で検討された検査法は必ずしも現場で行う方法へ反映されていない。そして、検査指針は公定法ではないはずだが、あたかもそれに類するものとして捉えられている。また、通知法については、作成当時は最善の方法と思われるが、その後に修正されることは稀であり、修正されても、一部の研究者により密室的に決められてしまう。この委員会では、通知法は今後どのようにすれば良いのか、検査指針の立場は今後どのように考えていったらいいのか、というところに関しても意見をいただきたい。

(高鳥) 非常に広い分野を網羅した概念で捕らえているのが本委員会ということである。

(浅尾) 標準法と公定法についていわれたが、その区別はどのようにお考えか？

(五十君) AOAC や ISO など、手順を踏んで策定され、広く公開されている方法が標準法であり、公定法とは通知法などが該当する。

(浅尾) ということは、検査法が Double Standard となる可能性も危惧される。公定法との兼ね合いはどうなるのか？

(五十君) 厚労省からの通知法は公定法となるが、今後、標準法の方向性のひとつとして、たとえば国立衛研が責任を持ち、専門家を召集し、手順に従ってプロトコルを策定し、標準法とする。ある食品の規格基準にこの標準法を検査法とする通知を厚労省が出せば、Standard の一本化は可能であると思う。

(浅尾) サルモネラでは汚染検査の解明について、非常に煩雑な検査法が採用されている。たとえば液卵と食肉製品についてはまったく別の検査方法となり、食品の特性により方法論が異なると思うが。

(五十君) たしかに菌を検出確保することを目的とするならば、食品の性質によって、多数の検査法を構築する必要性はあると思う。この点については、設定のしやすい形で整理していきたい。

(小久保) 今回、食品からのというところが重要であると思う。その時々で問題となる食中毒菌について、これまでも多くの検査法について議論されてきたが、これは食中毒発生時の対象菌について重点を置かれた検査法作成となることが多かった。その意味で食品という点を強調した検査法の検討を行うことは、食品の特質等についても考慮を行っていく必要があるということで、これまでのものとは明らかに異なり、意義は高いと思う。

(藤井) これまでの食品汚染についてみると、大腸菌群によって Regulation を受けているが、その意味はある場合とない場合もあるように思う。その意味で、汚染指標菌の議論についても行う必要があると思う。

(五十君) 検討委員会がうまく機能していければ、汚染指標菌についての議論も今後行っていきたいと思う。今回は3つの病原微生物について絞っているが、これは3年間という短い時限を考慮してのことである。成果を挙げていくための方法として、今回は入れていないが、今後はいっていききたいへん重要な課題であると思う。

(小久保) この委員会では実際に検査法の作成まで行うのか？

(五十君) 今回は3菌種を対象として挙げているが、本委員会で検討したガイドラインについて、実際各論の作業部会で作っていき、その結果を検討委員会に Feed back する予定である。ここでは実際の作業を行った時に出てくる不備を明らかにし、元のガイドラインをさらに修正する必要がある可能性がある。

(塚本) 現在、研究対象として決まっているのは3菌種であるが、検査法を検討するにあたって、もう少し広く対象範囲を広げることにはできないか？例えば、生肉からはよくサルモネラが分離できるが、こうした場面にも広く応用できる検査法として範囲を広げることができればと思う。行政処分を含んだ通知法は一つの重要な制御法であることにはかわりないが、例えば生肉の汚染状況をしる術として適用できる方法としていけないか？

(五十君) 方法による検出率の違いは、いままでも問題となってきた。検査法として、いろいろな比較を行い、現実的なプロトコルを標準法として一つの方法にまとめ、尺度を与えたい。これにより、他の検査プロトコルの評価ができると思われる。検査法としては、ひとつのプロトコルとなるべきだと思う。

(宮原) サルモネラの検査法についても、複数あるように、アメリカは食品に広く対応しているため、非常に煩雑となっているが、一方で ISO は単一のプロトコールとなっている。日本でも議論の対象とはなるが、一つとなるか、対象食品の特性にも対応した複数のプロトコール作りとなるべきかも議論すべき重要な点である。

(小久保) ISO は確かに Global である。個別の検査法だとまとまりにくい、そうかといって全ての食品を対象とした単一では検出感度の問題点は否めない。なるべく個々の食品にまで対応していくべきとは思いますが、とりあえず最大公約的な単一の検査法を検討していく必要もある。

(小久保) もうひとつの課題として、食品からの検査法ということであれば、損傷菌にまで対応していく必要があると思う。

(森) 損傷菌の問題は、特に冷凍食品で多いが、汚染指標菌の検出が行政処分へとつながっていくに留まっているのが現状である。登録検査機関として我々は、検査法の Validation に標準菌株を使っているのであるが、元気な菌を使っているため、当然のことながら問題なく生えてくる。定義とはなんなののであるのか、なんでも拾ってあげればいいのか、それともある Subpopulation をとってくるのか、証明書を出す立場としては、検査法を作る際に、背景となる現状の把握が重要である。試験法ありき、ということであれば、どんな食品でも OK となるし、議論が必要。培地の改良も今は非常に進んでいるが、培地による検出率の違いも大きい。

(田中) アメリカの方法は、培地も詳細に区別されている。煩雑性はいなめず、標準法としては Matrix として特殊なものを規定せず、汎用性の効く方法を考慮していくのが良いと思う。もちろん食品にあわせた方法論は必要と思うが、こういう検体にはこういう方法でおこなうといったコメントをつけることも出来ると思う。一例として、O157 の通知法がでた際にも、一次増菌に用いる mEC 培地で検出できない食品があった。そういった場合には、他法、もしくは評価の方法について参考できるような具体案を提案できれば、より汎用性の高い検査法となると思う。骨格としては標準法を用いることは可能であると思う。

(塚本) 確かにサルモネラの検査法は非常に多く、まとめることが非常に難しい。その骨格となる検査法は、資料にもあるように畜水産物を対象としているということなので、骨格にはやはり畜水産物を対象とした検査法にしてはどうか？

(高鳥) この3年間での達成すべき項目が3菌種の畜水産物からの検査法であることから妥当と思う。

(伊藤) 食品の安全性を評価する観点から、サルモネラなどはゼロトランスとして海外では考えられている。一方で黄色ブドウ球菌はある程度は問題ないものとされている。汚染状況から考えた検査法の構築も安全性を考える上で取り入れていかなければならない。

(浅尾) この検査法策定にあたっては、行政法上の立場というものをしっかりときめておかないと、処分の執行に支障をきたすことも考えられる。商品のサンプリングを含めた方法論の構築が必要である。もっとも詳しいものは乳等省令であるが、これについては非常に細かく書いている。行政処分という意味を持った検査法であるので、敏感に対処すべきかと思う。

(五十君) 田中先生の考えと同じく、食品を大雑把にひとまとめにした考えで検査法を考える必要があると思う。それに対して、菌種によってはプロトコール作成については温度差があり、検

査法を作る時に Matrix 固有の情報をどうすべきかについて事務局としても考える必要があると思う。実行性をもった方法論の意見集約に向けた検討が必要と思う、

(渡辺) 今までは公定法は何か問題が起こったときに、厚労省から一本釣りとして、Validationをおこなってきた。今後は、そういう公定法を作るのは、国衛研が担当していくという形を今後行っていくというシステムの一環として捕らえてよいのか？

(五十君) 食品からのプロトコールをどうするのか？という問いに対して、専門家の一本釣りであった昨今の状況は、必ずしも十分な成果がでるとはいえなかった。それを改善する方向性として、本委員会で参加メンバーおよび関係者に広く意見を求め、多数が納得するプロトコール作りはどのようにしていったら良いか考えるというのがこの委員会の趣旨の一つである。

(渡辺) 責任の所在を明確としたほうがわかりやすいと思うが。

(五十君) 病原微生物の検査については感染研の担当であるが、食品からの微生物検査法というカテゴリーは、国衛研が担当するというのも考えられる。

(高鳥) この委員会設立にあたっては、厚労省からぜひを受けてほしいというものではなく、こちらから提案した手前もあるので、今後の責任についてはやはり国衛研が持つというのが妥当かもしれない。一方で、学会が受け持つ担当・協力分野についても議論があると思うがこれについてご意見はどうか？

(小久保) 国衛研の中での協力体制はどのようになっているのか？

(五十君) 検査法は衛生微生物部だという訳ではなく、所掌では食中毒菌の検査については食品衛生管理部も担当している。ふりわけは、今後つめていかなければならないところであるが、基本的には2部が協力して行っていく。

(高鳥) 食品微生物学会のご支援も期待しているが、これについてはどうでしょうか？

(浅尾) 学会として検査法をどうするのかというところから、検査法検討部会が学会内にできている。本委員会に連動するところも大きいと思うが、学会としての受け皿はまだきまっていないので、作らないといけない。これまでの方法論を検証していくところで今スタートしており、コラボレーションも視野に入れるべきと思う。

(五十君) 最終的によりよい方法としていきたいという点では共通していると思う。この委員会ではどのように協力していけば、という点について議論してもらえればありがたい。

(小久保) ISO などとの関係についてはどのように考えていますか？

(五十君) 先行して行って来た、カンピロバクターについての方法論検討については添付した表にもある通り、国際法との比較を行い、整合性をとっているところである。本菌の検査法については非常にシンプルであったので、比較しやすかった。これをひとつのモデル系としてやっていくことができるのではないかと思う。

(高鳥) 資料5ページにあるように、行っていくが我々は年度ごとに報告書を出す Duty がある。ある程度見切りの動いていかないといけないと思うが作業部会での現状はどうなのか？

(甲斐) たとえば腸炎ビブリオの検査法を考えていく中で、その方向性を議論していく場はここなのか？作業部会なのか？具体的には、腸炎ビブリオ全体なのか。TDH 陽性ビブリオなのか？そういった基本的な線を最初に議論したいと思う。時間を要する方法は問題ともなると厚生省サイ

ドから言われているが、たとえば技術的な問題としてはもう少しつめていかなければならない。

(荒川) 今の検査では、腸炎ビブリオ何個以下という規制がかかっているが、これでいいのか？という疑問もある。病原因子を求めていくなれば、時間がかかる。こうした兼ね合いをつめていく必要性が第一義的にあるように思う。

(宮原) サルモネラについては、液卵の検査法が最近でてきたので、これを変えることは難しいと思うが、これに類するよりよい方法を作っていくため、文献を収集している。サルモネラについてはその整理段階にある。

(塚本) これを用いる実施検査機関は、具体的には地研などであるため、簡素化をおこなった方法論を模索している。

(丸山) なかなか整理がつかないようですが、食品の検査はその目的に温度差があることに原因があると思う。食中毒のように、捕まえることを目的とした検査、あるいは品質の保持を目的とした検査、これらを標準法として同時に整理するのか？あるいはある程度の幅を持たせて作っていくことが必要なのではないかと思う。その前提として、これらをまとめて作っていった方がいいのかという点について、この委員会で議論すべきだと思う。

(森) 畜水産食品となると、どちらかということと汚染実態を目的としたものとなるようにも思う。Ready-to-eat で分けるのか、どうなのか、数値管理をしていくものなのか、ゼロ規制をしていくのか、そのあたりが問題となるのではないか。

(藤井) 標準法というと、単一の方法と受け取られやすいが、目的に応じた方法の汎用性は必須である。そうであるならば、目的に応じた整理していく必要があると思う。菌の基準についても、腸炎ビブリオについてみても、理解してもらってつかってもらえるように利点・欠点を記載した併記が必要となってくると思う。

(高鳥) 黄色ブドウ球菌についてはどうか？

(清水) 畜水産食品の汚染を見るために行うのか？その目的がやはりわからないが、個人的には広い適用範囲をもった方法をとって、枝葉をつけて応用性を持っていく方法を考えている。

(五十君) 厚労省からは 3 菌種を行政法上の問題点が指摘されている方法として示された。サルモネラについては、99 年の乾燥イカ菓子食中毒の原因となった S.Oranienburg-Chester では検出率が血清型により大きく異なっていた。腸炎ビブリオについては、最近出た通知法が時間がかかるので迅速性を求めた要望がでており、黄色ブドウ球菌については米飯中心の食中毒であるが、マンニット食塩培地では、食肉からの検出率が低いといった点が提起された。そうした各論に対処するための検査法の設定は、すぐにかえしてもできないことはなかったが、それではこれまでの繰り返しとなる可能性が高い。大前提として食品の検査法とはどうあるべきかというオープンな議論の下で集約された考えから、この 3 菌種の検査法を示したい。

(高鳥) 腸炎ビブリオで出てきた問題は Open で検討しなかったからなのかもしれない。そうしたことから、本委員会での結論をもってスタンスを決定し、作業部会ではそれに従った形での進行を行っていきたいと思う。

(甲斐) 具体的にはというと、作業部会で議論してきた課題について、この委員会に挙げればいいのか？

(五十君) それでいいと思う。

(甲斐) 一つの方法論として、次回の委員会までに議論課題を用意し、ここで議論していただくということではよろしいか？

(小久保) いても当然の菌である黄色ブドウ球菌について標準法として示すのであれば、食品の衛生検査とはどういった考え方のもとにどうやって行えばよいのかといった指針をきめていかないといけない。

(五十君) ガイドラインを作った段階で、3 菌種ごとに特性が非常に異なっているため、たとえば定量的な検査。定性的なもの、迅速性を要求されるもの等々に分けて議論していく。

(小久保) 黄色ブドウ球菌はどこにでもいるから、直接平板塗抹法で 0.1ml あたりで検出されなければいいという考え方もあれば、食中毒菌であることから 10ml を増菌培養して定性的にでてはいけないという考えもある。

5. 討論

(田中) Harmonization の概念が普及している昨今の状況を踏まえて推察するに、本委員会での決議については世界に向けて発信していくのか？

(五十君) CODEX では各国の検査法を尊重しようというのが、今の流れだと思うが、わが国の方法は現在国際的にみると見劣りするものが多い。

(田中) 輸入食品についていうと、輸出国での検査結果と国内に入ってきた段階で行う国内法とでは、異なる場合がほとんどであり、民間業者への説明を行うに当たっては、説明しやすい位置づけが必要かもしれない。例えば、標準法何番でやりましたといったようにしてもらえるとありがたい。また、迅速性を要求するのであれば、やはり培養法では取れないことも多い。腸炎ビブリオでは、培養法で取れるものを標準法として策定し、その他については遺伝子検査のようなものも含めるとしてもいいのか？

(五十君) 配布資料 3 ページにあるとおり、考慮していきたい。

(高鳥) 本検討委員会の議論についてはいろいろあると思うが、忌憚ないところでおこなっていただきたい。その後、事務局が集約して話を進めていきたい。今回は方向性についてのあらすじについてが中心で、いくつかの点については理解できたと思う。

(浅尾) 腸炎ビブリオでは、告知法として入っていると思うが、検査法はいれないというふうになったようにおもうが、告知法の中に検査法が入っている現状では、優先されるのではないかという懸念があるが。

(宮原) できたばかりなので、変えられないのが現状である。それと同等のもので、判断してほしい。1 日で食べてしまうものの検査に 3 日かかったら意味がないので、それと同等に検査できる方法を出してほしいという要望を現場からは聞いている。厚生省としてはどうか？

(近藤) 試験法の考え方は近年変わってきており、記憶に新しいところでは食肉製品の試験法では試験法を告示法としていない。これは柔軟な対応が必要という観点から判断したものであり、これは告示と通達の可能性をお示ししているものと思う。あくまで行政判断であるが、告示として規定する方法と、通知法で同等以上と記載する方法もあると思う。ただ、ここでは行政の判断

権云々ということではなく、試験法そのものの内容について議論いただければと思う。(伊藤) 昔のがんじがらめだった告示法とは異なってきている。それは問題となりうる点について、同等となりうるといった議論をなしえるものについて検討できればよい。

(小久保) 食肉製品の規格検査法が、以前突然示されたというときもあった。検査法は進歩していくものでもあるが、固定化されてしまうという基本的なスタンスは変わっていかない。

(高鳥) 検査指針ということにはそのままにしておくということになるが、それとのかかわりについてはいずれ検討していかなければならない。

(小久保) 退職後に現在の日本食品衛生協会にいつてから、食品衛生検査指針のプロトコールを作成したが、当時の厚生省に見てもらい、今の指針になったと思う。

(宮原) 検査指針は10年に一度の改定なのか？

(渡辺) そうではない

(小久保) きっちりとした形で製本されているので、たとえば追捕としてならできる？

(渡辺) それをさっきからきいているのだが、将来あれを変えていく場合には、本委員会が中心となって行っていくのか、それともそれとは関係なく、衛研が中心となってこれを推進していくのか、スタンスをはっきりしてもらいたい。

(五十君) たしかにその流れを作っていくことは必要でしょう。それについては、厚労省からこちらにくるのか、それともこちらから、あげていくのかについては状況次第といわざるを得ない。

(伊藤) 5 ページの中に、厚生労働省や指針との兼ね合いについて記入すれば？原案についての答申をするのかあるいはここで議論して策定するのか＞そういったこともここにいれておいたほうがいい。

(渡辺) この辺のことを厚労省にお聞きしたい。

(近藤) 標準法検討会の議論については、自由な討議の観点から関係しないというスタンスでいく。指針との関係については、標準法としての尺度が示されれば、これを踏まえて指針の検査法の中に入れていったり等の、判断が可能となる。なお、検討会の設立の経緯を含めた関係性については、中立という立場になる。(高鳥) もし、そういうことになるならば、皆さんの意見を集約して協力した体制がないといけない。そのスタンスだけはしっかりとしてもらいたい。

(五十君) 食中毒時の微生物検出法については、感染研が担当しているがそちらはどうか？

(渡辺) 食中毒が発生した場合には、疫学調査との関係から、原因菌を検出できれば方法にはこだわっていない。ただ食品から出てきた場合には、菌種によってリスクが異なるわけだから、検出法の比較は根底にある考え方から違う。それを成立させうる調査が必要である。

(五十君) 海外では、疫学調査からだけで行政処分ができる国もある。一方で、わが国では地研の間でも、技術的なものにもかなりの開きがある。食中毒患者の検出にあたっては、どうか？

(渡辺) 菌が分離できるかできないかというところよりも、まず遺伝子があるのかないのか、そういったところで、まず判断を行い、より高感度の方法で、検査している。

(甲斐) スクリーニングで陽性となったものについてのみ、検査を行い、必死に探すというのが患者のスタイルだ。もちろん、最終的には菌を確保することはひつようだが、食品検査とは異なる。

(伊藤) ヒトの検査指針はなくなっている。

(渡辺) それを Version up したものが感染研と地研で作成した検査マニュアルがある。一方、食品では、でたかでなかったかということをかきめないといけない。

(宮原) リスクを指標としたものを考えていくことが非常に難しい。

(渡辺) VNC などの人体への評価が非常に難しい。健康被害との関連性をどのように検査法で行っていくのかという点については、これからも必要と思う。

(宮原) そうしたリスクを加味して考えていかないといけない。

(甲斐) 評価は非常に難しいが、重要と思う。

(伊藤) 民間のセンターでは、迅速性と費用の面が、前提にある。したがって両面を担保できる方法がひとつの要因として加味していかないといけない。

(甲斐) 総合的な方法が必要といえる。

(高鳥) 最終確認を行いたい。

1) について

(五十君) 基本は培養法であるが、たとえば腸炎ビブリオについては迅速性が必要であり、何らかの形で遺伝子などの診断法を併せて行うこととしたい。

2) について

(小久保) この委員会で決定した事項について、どの程度の公開とするのか？

(五十君) 5 ページにあるようにインターネットを介し、原案がでてきた段階で、公開し、その後の意見追加に伴い、これも公開し対応策を考えていく。

3) について

(五十君) コラボの重要性については、厚労省も認識しているが、実はその前のプロトコール検討の段階がより重要である。十分な議論が行われていない方法では、コラボを行ったとしても満足できる検査法は出来ない。

4) について

5) について

6) について

(小久保) 来年の食品微生物学会で何か、中間報告できるか？

(五十君) 事務局としては、年内にあと 2~3 回開きたいと思うが、次回が 10 月 25 日、それから年内にもう 1~2 回くらいは開けるかと思う。議論の様子を見ながら判断していきたい、また、研究班としては、早いほど動きやすいとも思う。また、作業部会ごとに問題点を資料として作ってもらい、事務局に送ってもらえれば、委員全員に送りたい。

25 日の次回会議では、検査法のプロトコールをどのように決めて言ったらいいのかということについて、ある程度ガイドラインを構築していければと思う。その内容を受けて、3 回目の内容を考えていきたい。ここでは標準法として成立しうる内容とするため、試験法のどのステージを Open にするか、といったところについて、25 日に議論したいと思う。

(藤井) この検討委員会の名簿には学会の名前があるが、各自の所属についてはそのように理解してよいのか？学会の手続きなどはどうしたらいいのか？

(五十君) 食品微生物学会ではどうか？

(浅尾) 了解されている。

(五十君) 民間などではどうなのか？不明な点もあることから、本委員会における所属名については、個々の判断に任せたい。

6. その他、事務連絡など。

(五十君) 名簿修正などありましたら、事務局に連絡ください。また、旅費については配布文書に押印の上、郵送もしくは直接お渡しください。各自指定口座に振込みで支払いいたします。

(高鳥) 次回は28号館3階の会議室で行いたいと思います。お忙しい中ありがとうございました。

以上

議事録作成担当 朝倉、石和

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2回検討委員会 議事次第

日 時： 平成17年10月25日（火） 14:00～17:00

会 場： 国立医薬品食品衛生研究所 28号館3F 第一会議室

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
3. 配布資料の確認・第1回議事録案の確認
4. 討論
提出された資料に対する意見交換
標準法作成ガイドラインについて
5. その他、事務連絡等

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

1. 第一回本委員会議事録案および議事録概要案の確認と修正
表記、言い回し等の変更を確認した。
2. 現行の告示法の問題点等について、まとめた文書の説明（浅尾先生）
3. サルモネラ検査法について、現行の告示法が検査対象食品により、異なった方法をとっており、現場での食品検査を行う上で混乱を起こしかねないことを確認した。
4. 腸炎ビブリオ検査法について、現行の告示法では、検査法が成分規格に入っており、修正が容易でないと思われ、示された培地組成は、市販培地に該当する物がない等が指摘された。
5. 腸炎ビブリオ検査法で、“検出感度などについて同等以上の基準を持った試験法なら OK とする”とされているが、どの様に判断するのか示されていない。
6. 大腸菌群検査法では、これまで修正が加えられてきたが、基本的骨子については変更がなく、まだ非現実的と思われる部分がある。
7. これまでの検査法作成に関しては、個々の検査法について、限られた専門家によりプロトコール作りを行っていたが、今後は検査法の作成にあたって、検査法全体の統一性や、広く意見を求める必要性があることを確認した。
8. 標準法作成ガイドラインを作っていく上で、標準法作成のシステム作りが第一段階であるように思う。
9. ISO や AOAC での検査法構築の方法論について解説（松岡先生）
10. わが国の標準法を策定するに当たっては、AOAC のような Validation の仕組みを作っていくことが必要である。
11. ISO や AOAC でコラボを行う場合、①どのヒトが②どんな場所で③どういった方法でやるのかという、3つの項目を基準として設定している。
12. 微生物検査に関する Standard materials について、海外の状況を示した。
13. 標準法作成ガイドラインについて、ガイドラインの大枠として、ステップアップの考え方を事務局から説明した。第1ステージから、第4ステージを設定し、それぞれのステージで行うことを整理した。（別紙資料参照）
14. ステージ2で作成される作業部会案を十分に議論、検討することがポイントで、このステージが一番重要となる。
15. ステージ4のコラボスタディーは、比較的規模を小さくし、ボランティアを募ることも考えられる。
16. ステップアップの考え方を、3菌種の試験法を作るための作成方針としてゆく。
17. 標準法作成委員会というこの組織そのものについては、将来的にも続けてゆきたいが、具体的には食品の微生物検査法については国衛研が責任を持つべきであろう。

18. 本委員会ではまず大枠の策定指針について行い、食品マトリクスや対象菌に対する具体的な設定についてはステージ 1 で個々の検査法の方向性を確認した上で議論する。
19. 原案等を公開する方法として、インターネットを利用する他に、文書等で関連団体等の第三者機関への通知を行う。
20. 公開する内容としては、原案等検査法のプロトコールに関する内容と、作成方針なども含める。本委員会の議事録の公開については、今後検討。
21. 迅速法の取り扱いについては、標準法とは別のものと考え、標準法検討委員会としては、尺度となる培養法による検査法作成を優先する。
22. ビブリオ検査法に関する検討が必要と思われる点を示した（甲斐先生）
23. ビブリオについては、対象菌種としては腸炎ビブリオにしぼる。その他の示された課題点については、作業部会で方針を決め、委員会へ提案する。

「食品からの微生物検査標準法検討委員会」第二回委員会議事録

日時：平成 17 年 10 月 25 日（火） 14：00～17：00

会場：国立医薬品食品衛生研究所 28 号館 3 階 第 1 会議室

出席者

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	宮原 美知子	(国衛研・衛生微生物部) 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
	春日 文子	(国衛研・食品衛生管理部)
	清水 晃	(神戸大学・農学部) 作業部会
	甲斐 明美	(東京都健康安全研究センター) 作業部会
	塚本 定三	(大阪府立公衆衛生研究所) 作業部会
	浅尾 努	(大阪府公衆衛生研究所、日本食品微生物学会)
	伊藤 武	(財団法人 東京顕微鏡院)
	田中 廣行	(財団法人 日本食品分析センター)
	松岡 英明	(東京農工大学・工学部、AOACI Japan section)
	森 曜子	(財団法人 日本冷凍食品検査協会)

欠席者

	渡辺治雄	(国立感染症研究所・副所長)
	荒川英二	(国立感染症研・細菌第一部) 作業部会
	丸山 務	(社団法人 日本食品衛生協会)
	小久保 彌太郎	(社団法人 日本食品衛生協会)
	藤井 建夫	(東京海洋大学)
	近藤 卓也	(厚生労働省・基準審査課)
	道野 英司	(厚生労働省・監視安全課)

1. はじめに (山本委員長、高鳥副委員長)

(山本) 今回は 2 回目の開催となり、より実質的な話へ展開すると思うが、ご意見をよろしくお願ひしたい。

(高鳥) 前回の Free Discussion から全体としての方向性が見えてきているかと思う。年内にもう一回開く予定であるので、より具現化した形での進捗を期待したい。

2. 行政担当官からの発言

(山本) 行政から参加予定の道野氏、近藤氏は残念ながら、現在開催されている国会対応の為今回は欠席となるが、本委員会での決定事項を行政面へ取り上げていってもらおうよう、今後とも働きかけていきたい。

自己紹介

(松岡) 東京農工大学・工学部に所属しており、現在 AOACI の Japan section にも所属している。以前より Biosensor に関する研究を行っており、その中で特に迅速検査法の開発を行ってきた。その検査法の Validation が重要との認識から AOAC 深く関わるようになった。宜しくお願いいたします。

(春日) 事務局のバックアップと、微生物の規格作成の面、例えば基準値の設定などの問題において寄与できればと思っております。宜しくお願いいたします。

(山本) 春日先生は ICMSF の委員でもある。サンプリングの考え方など、規格基準に対する微生物基準の情報も随時協力していただければと思う。

3. 配布資料の確認・第1回議事録案の確認

(五十君) 4点の資料、右上にA-Dまで振った各資料をご確認いただきたい。資料Aには第1回議事録確認のために、2ページ目に議事録概要、次のページに全体の議事録案を添付している。時間の都合上、前回の内容確認は、概要をもって確認したい。不備な点等があればご指摘いただきたい。

(山本) ご意見ありますでしょうか？議事案については事前に配布されております。

(浅尾) 概要9にある告知法は、告示法ではないか？

(五十君) 訂正いたします

(山本) では前回の議事録案を最終的に帰結する。議事録作成にあたっての問題点、作業部会におけるプロトコル原案、作成にあたっての考え方などについて今回も議論を行っていききたいと思う。

4. 討論

提出された資料に対する意見交換

(山本) 浅尾先生から、より実質的な試験法の問題点についてご提起頂いているので紹介し、意見交換を行いたい。

(浅尾) 現場での食品検査を行う上で混沌とする点について挙げさせていただいた。まず、サルモネラ検査法についてであるが、3ページにまとめたように、検査対象食品により非常に多くの方法に区分されている。食肉製品についての検査法は平成5年にはじめてできたのだが、このときにちょうど食品衛生法の成分規格から外れた形での適用となっている。この食肉製品の規格については、厚労省から新しい概念を説明された。その後、殺菌液卵が平成10年に成分規格から除外されている。表を見ていただければわかるように、食肉製品は生食用食肉と同一のプロトコルであるが、殺菌液卵からの分離法は、汚染実態調査と異なっている。例えば殺菌液卵では Modified BPW を一次増菌培地として使用することとしているが、汚染実態調査では通常の BPW となっている。また、分離培養に際しての温度について比較すると、35 もしくは $36 \pm 1.0^{\circ}\text{C}$ という表記が混在している。従って、幾つかの検体を同時に検査する場合には、孵卵器が少なくとも2台必要ということになる。新しい検査法には温度管理の点も実態を踏まえた上で改良してもらいたい。

次に腸炎ビブリオについてであるが、本検査法は成分規格に入ったままである。同時に、検出感度などについて同等以上の基準を持った試験法なら OK とするものとされている。4 ページ目にまとめたように、TCBS 培地は告示法で示された方法は定性、微妙に会社によって成分が異なっている。となれば市販培地では対応できないということにもなりかねない。また、同定法に用いる培地として、LIM 以外は市販培地で対応可能であるとしているが、LIM については個々で作成しなければならない。“同等以上”という問題と、“優れた検査法”という 2 点は、必ずしも妥当ではない。ここでいう同等以上の検査法としては、腸炎ビブリオではグラム中 100 個以下とする問題が関係してくる。感度が上がれば当然のことながら、検出数も異なってくる。成分規格があるものについては、特に、違反件数など実質的な行政対応の面からいってもトラブルとなりかねない。これを防ぐ方法としては、AOAC や ISO などであるような番号をつけること、そして、以前の方法をキャンセルできるような仕組みを作ることが必要ではないかと思う。地研のようところは、SOP 番号として、成績書にはこれをつけて送っている。その成績書などにこの検討委員会で決定した方法についても番号を対応させた記載があればいいと思う。

（山本）サルモネラ、腸炎ビブリオについての問題点を指摘いただいた。これについてのご意見はありますか？

（浅尾）特に腸炎ビブリオについては地研で不満の声が多い。どれをやればよいのか、非常に変法を出しすぎて混乱している。

（高鳥）矛盾点のある細菌検査法はそのほかにも多いのか？

（浅尾）食肉について特に問題となるのが今回の対象菌であるが、たとえば大腸菌群についても改正が続いている一方で基本的骨子については変更がなく、乳等省令では、採取してから 4 時間以内に検査を行なう、等といった非現実的な記載もある。

（五十君）本委員会の設立背景となったものの代表的なご意見と思う。従って、検査法には十分な議論をもって作っていかねなければならないといえる。

（山本）今回の委員会、作業部会ではこうした点を踏まえて行っていただきたい。これまでの検査法ができてきた経緯の中で不透明さは否めない。AOAC にあるような策定については、後ほど松岡先生にもお話いただきたいが、ここでは GLP にも適用できる検査法とは何かということで、考えていきたい。迅速化のための工夫など特定の者に対する変法は個々でできるので、根本的な点として標準法のグローバル性を担保できるような形で進めていきたい。

（伊藤）サルモネラの話がでてきたが、検査法についてはこれまで、厚生省があるヒトに投げて作成されてきた。検査指針を書くときにもそれにのっとった方法がでてきて、公定法となってきた。多くのヒトの意見を集約することは、Harmonization の考え方へとつながると思う。生食用の EEM 培地は諸外国では現在使われていない。現在は BPW が有用とされているが、一方で EEM は国内での行政上の点から多くの人が未だに使っている。

（山本）国際的な整合性を持っていくことは非常に重要である。より新しい方法を取りあげていくことは以前にもあったというが、科学的興味と誰もが使える技術として、策定していくこととは違うようにも思う。

（五十君）サルモネラのプロトコールについてみても、もしチェックシステムがあれば、こうし

た事態にはならなかったのではと思う。行政から専門家への一本釣りがあり、検査法を担当する専門家は、依頼された検査法についてのみ検討し、結果として同一菌に対する検査法が食品により全く異なってしまったと思う。担当する行政官は2年くらいで変わってしまうので、十分に管理するシステムはないというのが現状であるように思う。

(田中) 殺菌液卵の検査法作成にあたってのコラボスタディにはISOのシステムを使ったように思う。この時は、食品全体でのプロトコルを流用した記憶があるが、最終的には液卵という方法で前に出てきてしまったような気がする。孵卵器についても、腸炎ビブリオについては、3台必要であるし、プロトコルとしては問題が残る。これを担保するためには、たとえば35度では何故駄目なのか、ということを経験的に説明できなければならない。こういったValidationを行うことも実地的な方法論の構築には必要であろう。孵卵器2台が1台になれば現場としては有難いと思う。

(浅尾) 孵卵器に大量に食品を入れれば、温度制御にもムラが出る。GLPでは一箇所しか計らないので、食品間にムラがでることは容易に想像できる。こうした問題もある。

(山本) 貴重な問題提起有難うございました。今後は標準法作成ガイドラインを作っていく上で、色々なやり方を考えていかなければならないが、システム作りが第一段階であるように思う。ここでAOACやISOでの方法論構築について松岡先生からご説明頂きたい。

(松岡) AOACは始は官主導で運営されていたが、現在は民主導で運営されている。サンプリングから検査に至るプロトコルを細かく決め、統計・安全性の専門家によるチェックも含め、試験法委員会の審査を経た後、コラボスタディを行っている。コラボスタディは定性と定量では異なるが、例えば定性では10箇所ですべて同時に試験を行い、その結果に基づき評価する。10箇所ですべて実施したが、そのうち一箇所でも失敗があれば全体が駄目になるので、通常、安全をみて15箇所くらいでコラボする場合が多い。その結果、信頼性ありとの評価が得られれば、First actionとしてメソッドブックに載って公開される。その後、一定期間の開示を経て問題無し、と判断されれば、Final actionとなる。一つの試験法のプロトコルを決め、そのバリデーションをするには、非常に時間も費用もかかる。費用はその試験法の提案者が負担することになっている。試験法のバリデーションをオーガナイズする組織はAOACであるが、コラボには日本からも参加することができる。前回の議事録(案)でも指摘されているように、わが国の検査法には曖昧な点があるが、この曖昧さを無くすことは、国際的 Harmonization のためには不可欠であろう。そのためにはValidationを行う機関が必要となる。AOACは100年以上の歴史があるが、微生物的方法が取り入れられるようになったのは1965年からであり、それ以来、約100件の微生物試験法がOfficial Methods of Analysisとして登録されている。それらは、メソッドブックの中では「Microbiological Methods」として1つの章にまとめられている。一方ISOでは微生物試験法として登録されているものは2004年6月時点で11項目しかない。この中にはビブリオが3件、サルモネラが2件ある。AOACではテストキット用の簡略式Validationも行っている。この場合には1箇所でのValidationでよしとする。AOACが認めたということはFDAが認めた試験法であると認識される。わが国の標準法を策定するに当たってはこうしたValidationの実施を行う仕組み自体を作っていくことが必要なのではないかと思う。Validationには多大な費用がかかるので、それを実施

する組織や仕組みを作るのに、最初から民主導というのは難しいのではないか。AOAC もそうであったように、最初は官主導で立ち上げることが望まれるので、本委員会の設立は、その契機と位置づけられると思う。

(山本) 官主導の考え方は非常に理解できる。もう一歩前の段階として、Validation にかける前の検査法そのものについて策定していく段階が、オープンではなかったもので、これまでの認知度・正確性が低いものとなってきたのではないかと思う。これを作るための Mini-validation を作ることも必要で、筋道としては非常に難しいが、今後のガイドライン策定に当たっての意見をこれからの時間で伺っていきたいと思う。この AOAC についてご質問ありますか？

(伊藤) AOAC ではキットをはじめとした迅速法についてのものが多いように思う。我々の目指している標準検査法に類するような時点で、AOAC ではそういった検討がなされてきたのか？

(松岡) AOAC 法で最もグレードの高いバリデーションプログラムは Official Methods of Analysis (OMA) であり、もともと AOAC 法としてメソッドブックに掲載されてきたものは、この OMA のことである。これに対して、1991 年以降、簡略式のバリデーションプログラム (Performance Tested Methods; PTM) が導入された。迅速法、あるいは簡便法であるキット類は、この PTM でバリデーションするケースが多くなった。しかし、簡便法でも OMA に登録されているものはある。OMA と PTM は、そのバリデーションをどれくらい念入りにやるか、の違いであって、正しく測定できるかどうかの判定は、どちらも共通で、要するに培養法と同じ結果になるかどうか、ということである。このような考え方でバリデーションされた方法を、FDA も認めている、ということである。FDA は OMA を使うべきだ、と言っているのではなく、OMA ならば信頼性ありとして認める、というスタンスである。使ってみて、確かだから、標準検査法として受け入れられている、ということである。

(山本) ISO は AOAC のやり方で Validation したと先ほどいっていたが…。

(松岡) Validation の仕方を最も厳密に規定して実施しているのは AOAC であるから、恐らく ISO では、AOAC 法、あるいはそれに準じた方法で Validation したのではないかと考えられる、という意味である。

(田中) AOAC でコラボを行う上でのラボの規定はあるのか？

(松岡) AOAC では元々試験法のプロトコルの規定だけを考慮していたがで、誰がどこで実施するか、ということも考慮しなければならなくなった。「誰が」については技量認定 (Proficiency Testing Program)、「どこで」については試験所認定 (Laboratory Accreditation) である。これらの点については、むしろ ISO のほうが以前から強く提起しており、AOAC は 1998 年頃より、それを導入する形で Validation の中に取り込んできた。さらに、これらの認定に際しては、Standard material の重要性がクローズアップされている。

(山本) GLP にあるような Standard materials について、AOAC はどのように使用しているのか？

(松岡) 微生物に関する Standard materials についてはイギリスの Central Science laboratories で作っている。Official なものはここだけである。一方、オーストラリアではフリーズドライで作成した Standard を作っている。対象菌種も多岐にわたり、Salmonella, Staphylococcus, Bacillus