

cereus, Listeriaなどを30CFUになるように調整したものを市販している。

(山本) 化学物質についてはどうか?

(松岡) National Institute of Standard Technology (NIST) で提供している。

(浅尾) 日本では秦野研でこうした外部管理を行っているようである。

(宮原) イギリスでは商売となっているが、日本でもこうした方法論構築の手立てがあればと思う。

(浅尾) AOACでOfficial methodとして出されているものはどの程度あるのか?

(松岡) Official method programがだいたい1884年から集計して3000件くらいある。テストキットについては1990年からスタートしているが、300件くらいであったと記憶している。

(浅尾) Official methodsを認めてもらうために、献金的なものがあるように聞いたことがあるが。

(松岡) 企業がメソッド開発者の場合は、バリデーションによって信頼を得て、それをビジネスに生かそうという戦略を考える。それが、「バリデーションの費用はメソッドの提案者が負担する」根拠となっている。OMAの場合は、費用は、実際にかかる費用相当の額になるであろう。しかし、PTMの場合は、バリデーション実施申し込みに時点で、200万円程度の申請料が必要になる。迅速に作業してもらうための「速達料金」と理解すべきか。いずれにしても高額な費用負担がついてくるので「献金で信頼を買う」と誤解されるのかもしれない。AOACとしては商売に関係なく行なうわけだが、キット関係についてみると、企業からの要望は多い。ところで2001年のテロ以降、AOACとしてのスタンスが変わってきた。すなわち、正確に対応できる方法論が基軸になければならないが、かといってこれらは急にできるものでもない。現在は、テロなどに対応するため、ValidationしていないMethodも含めて4つのグレードに分けて、インターネットで公開している。①Official Methods of Analysisの他に、各国の公定法、②OMAには及ばないが、複数のラボでValidationされたもの、③単一のらぼでValidationされたもの(テストキットもこれに入る)、④Validationされていない方法、の4つである。各国の公定法については、第1のグレードに位置づけられるので、それぞれの国の責任において、その信頼性を十分確保しておくことが重要となる。

(山本) そうなれば、ここで議論される標準検査法には正確なValidationが必要となるということになる。

休憩-10分間-

#### 標準法作成ガイドラインについて

(山本) 基本的な考え方として、ガイドラインのステップづくりを行うための話をしたい。まずはガイドラインの大枠として事務局から説明をお願いしたい。

(五十君) 資料Aの13ページと資料Cについてご覧いただきたい。こちらで作成しましたのが資料Cです。基本的枠組みとして、本委員会で策定した原案を作業部会で話し合い、コラボを行った後、最終的な標準法として展開していきたいと考えている。すべての関門をくぐりぬけてい

ったものについては、公開して広く意見を求めていきたい。個々のステージについては A の 13 ページに示した形で提案したい。まず、各作業部会には関連する比較表を作ってもらい、原案のたたき台となるものを本委員会に提出していただきたい。これを委員会で議論し、修正して原案とする。これを第 1 ステージの最終案として、公開し、第三者機関に文書などで意見を求める。続いて、第 2 ステージとして、原案を作業部会に引渡し、協力を受けながら原案に関わる実際のデータ出しを行い、検討箇所を出すなど、細かいプロトコルの検討を行う。第三者機関などからの意見はプロトコルに反映させたい。これが作業部会案となりデータの反映した形での正確性が増した状態で、委員会に提出する。これについても第三者機関の意見を求める。次の第 3 ステージでは、親委員会で意見と議論を行い、作業部会案として、コラボ参加者を募る形にしていきたい。

最終ステージでは、作業部会が中心となってその実効性を評価し、親委員会は作業の進捗を確認した後、最終案として標準検査法へつなげていきたいと考えている。

以上がガイドライン作りとして事務局から提案したい内容である。ご意見を頂きたい。

(山本) このステージごとの、タイムスケジュールについてはどうなのか？

(五十君) 各論的なものでは状況が異なると思うので、現状においては想定していない。

(山本) とすると、これは大枠としてのステージということか？

(五十君) その通りです。

(森) これは 3 菌種の試験法を作るための作成方針ということか？

(五十君) そうです。ここまでしていく必要があるのかどうかについても、ここのところはスキップしてもいいのではないのかという点についても、進行具合に則した作成方針自体の見直しも含めて考えている。

(森) 標準法作成委員会というこの組織そのものについては、将来的にも続いていくと考えているのか？

(山本) 恒久的にこうした組織を残していき、将来的にも食品の微生物検査法は国立衛研などを通じて行っていければと思っている。

(宮原) コラボの規模等については、松岡先生のご説明のように大きなところでやるのか？それとも ISO のようにコラボしない場合も考えられる。予算のバックアップについてはできる範囲にあるのか？

(五十君) コラボは問題ないと考えている。

(森) ボランティアとして行ってもらえるところもあると思う。あくまでも客観的なデータとなるかが重要と思う。

(五十君) 例えば具体的方法ができた段階で行なってみたいというところがでてくれば、コラボ実施に必要な額のうち、ここまでしか出せないといったような形で予算的な提案・交渉もしていきたい。

(森) 農林水産省の化学物質に関するコラボスタディーではボランティアが非常に多い。もしキットを使うようなところについては、費用がかさむが、新しいものを作れということにならなければ、問題はないかもしれない。

(宮原) ボランティアというのは馴染むものであろうか？

(松岡) AOAC はボランティアとなっている場合が多い。ステージ 4 でコラボということになると思うが、その前でのコラボは必要ないのか？

(五十君) ステージ 2 での第三者機関での検討を行うので、これである程度の実験的データは得られるのではないかと思う。

(伊藤) こういう培地がいいとか、そういった情報があがってくればいいと思う。このステージ 2 が大変だと思う。最後のステージ 4 については、スモールスケールでできると思う。もし、そうであればボランティア的にできるのではないかとも思う。その規模については、各作業部会で具体的な数字を挙げてもらえればいいと思う。

(山本) そうすればステージ 3 でのコラボを募る段階は、親委員会でも議論する必要があると考えてよいのか？

(五十君) 予算状況なども考慮に入れて、検討はしなければならないと思う。

(山本) ステージ 2 で作成される作業部会案を十分に議論しなければならないということであろう。

(松岡) インターネットでの意見募集だけでは難しいと思う。非常に自由な立場で行うことではないのではないか。ここまできたらコラボをするためにはどうすればいいのか考えればいいのではないと思う。サルモネラについてみても、データをだしていくステージ 2 で時間、労力を要するし、この段階が最も重要に思う。日常的に忙しい方が多い作業部会では、専任のスタッフがいれば理想と思う。

(五十君) 各作業部会には中心となる 2 名を選任させていただいており、実際のデータだしは、この 2 名が活動してくれる協力者を決めていってもらうスタイルである。ご指摘のステージ 1-2 は、これまでのプロトコル原案から意見をなるべく出してもらいたいとの意見から、明瞭性・均衡性をとった結果、このような形に収束した。

(山本) ステージ 1 の原案を公開した段階で、ステージ 2 がスタートしていると考えたほうがいいのではないかという気もするが。

(五十君) まさにそうであるが、例えばビブリオ検査法のように、現行方法のような 3 日かかる方法ではステージ 1 で、すぐに反応があるかもしれない。もちろん、公開と同時にステージ 2 のデータだしを行っていくことは必要だ。

(宮原) 1 ヶ月程度の期間に設定しておいたほうがいいのかも。それから食品の Matrix について、AOAC 法はこだわっているが、ISO 法はこだわっていない。どちらの方向性がいいのか議論していただければ、どういう方向性で検討できるかもすっきりすると思う。

(松岡) AOAC ではできることしかやっていないというのが率直な意見だ。培地の場合にはそれでいいが、キットでは培養法と同じ結果になることだけを良いとしている。培地の問題というのは今後の迅速法がクローズアップしていく中では、日本からどんどん出していくべきだと思う。ただし、卵などすでにある程度クローズアップされた方法については培養法を基準にしている。

(宮原) Official method についてもサルモネラは 21 個あるように思うが・・・。

(松岡) 17 程度であったと思う。この中にはカバーしていない食品 Matrix もある。

(宮原) 私見ではあるが、なるべく簡単な標準検査法を設定したいと思っているので、複数の Matrix を網羅できる形での共通的な方法が望ましく思う。

(松岡) Matrix に影響をあまり受けない食品について、まず行えればいいのかではないだろうか。

(塚本) サルモネラの検査については、乾燥に強いという本菌の特性から想定される汚染食品は多岐にわたる。となれば当然、食品 Matrix も広範になるが、この委員会では、ぜひとも対象となる食品項目について設定していただきたい。他の食中毒菌については、ある程度範囲が決まっているが、サルモネラは考えられる対象が非常に広く、ある程度絞っていただきたい。

(山本) 前回の話では基本的には、分離培地から固まった段階で、色々な食品に適応できる検査法を理想としていたように思うが。

(五十君) 基本的には畜水産食品からという限定で、サンプルの前処理で目的にあった形にしたい。もちろん、他の Matrix あるいは他菌種についても将来的には考慮していきたいと思う。

(森) 3 菌種を同様に扱うのではなく、性格付けを行うことが重要であると思う。将来的なことも含めて、今後の委員会の展開にも有益と考えるが。

(五十君) 各論については、作業部会の意見として、集約した後にしていただきたい。本委員会の議論の中心となるべきはプロトコール作成の策定方針を決定することにある。

(森) 例えばサンプルによって、最適なところからだしていかないと、後々混沌とする危険性がある。ブドウ球菌については毒素が残っていれば問題になるといったことである。菌種ごとの合意事項についてははっきりしておかないといけないと思う。それぞれの試験法についての目的をはっきりしておく必要がある。

(五十君) こういうグループの代表がこれ、といったことを決めておき、こういうのがあれば、ゼロトランスにあるものは、こういったプロトコール作成方針でいけばいいということであろうかと思う。ブドウ球菌、ビブリオなどではまた異なる方針になっていくと思うので、それぞれの方針について、作業部会発足前に、代表性を出しておかないと、意見集約の段階で非常に多様・多面な意見が出すぎて、混乱してしまうのではないかとも思う。

(山本) 各論的なところを方針の中に入れるかということかと思う。ここで議論すべきはもう少し大枠な策定指針のところの話であって、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委員会で議論したい。

(森) そうです。ステージ 1 でオープンにして、それについても議論する形をとればこの問題は解決するように思う。

(山本) では、ステージ 1 の中で、原案には作成方針を含めてインターネットでオープンにするという文を追加したい。

(伊藤) 原案作成での問題点を議論する必要がある。菌種による問題点の違いも作業部会で出してもらえれば、ステージ 1 での問題点はなくなるかもしれない。

(五十君) ということは、作成方針を含めてという記載を新たに加えればよいか？

(甲斐) インターネットでの公開ということだが、より意見を集約するためには公開法を検討する必要があると思う。

(山本) 第三者機関としては食品微生物学会や、衛生微生物技術協議会などを通じて、文書でも

提案したい。

(五十君) インターネットの不確実性を担保する目的で、第三者機関を設けて文書で提出したいと考えている。

(浅尾) 学会でどうするかというところも問題になるかと思うが。

(山本) 学会での了承も急いで決めなければならない。また、農水系での通知はどうすればいいのかということについてもカバーしていくことを考えなければならない。

(浅尾) インターネットでの情報については一方通行の話とならないか？

(山本) これを回避するため、議事録の公開を考えている。

(伊藤) 登録機関などについては、その登録協会があるので、こうしたところを通じて意見をもらう形も考えられる。

(宮原) 学会誌での情報提供についてはどうか？

(甲斐) 食品衛生研究は毎月でている。食品衛生学会誌も候補としては適切かと思う。

(浅尾) 防菌防黴もよく読まれるかもしれない。

(松岡) 情報提供としてはこういった方式でよいと思う。

(五十君) 微生物関連のメーリングリストは整っていないので、これについても考えていければと思うが。

(甲斐) 地研ではメールを個人で持っているところ、そうでないところ、と様々であり、担当者が変わるとリセットされてしまう危険性があるので、大学に比べるとインターネットが利用されていないように思う。

(五十君) その他、文書中への訂正点としてご意見がありましたらご指摘いただきたい。

(山本) これからは具体的な詰めの一つとして、腸炎ビブリオの確認をしたい。これについては培養法と併せて、迅速化が求められている。同時並行的に検討していなければならないと思う。甲斐先生からご提案いただいた内容を資料 B の 5 ページに記載させて頂いた。

(甲斐) どういったところを決めないといけないのかという各論ではあるが、問題点を挙げてみた。まず、対象菌はコレラなども含めるのかあるいはビブリオのみとするのか、ご意見を求めたい。実際の現場ではこの方針が様々である。また、溶血毒産生株に絞るのか、定性法と定量法いづれか、もしくは双方か。今回は培養法を基本として、迅速法も視野に入れたい。サンプリングについては、非常に問題となる。また、遺伝子検査法を導入するかどうするか。増菌培地は対象菌によって異なってくると思う。食塩ポリミキシンブイオンはコレラ菌には向かない。また、増菌培養についてもコストと時間の問題がある。TCBS 寒天についてはメーカーによって大きく異なる。濃縮法など、精度を上げていく方法を採用するべきか。これは定量性との兼ね合いとなる。これを決める時期、段階などについてご意見を伺いたいと思う。

(山本) 検討項目がこれほどあると、インターネットを介しては時間がかかりすぎるように思う。原案となるものは作業部会である程度絞っていただきたい。議論の上でこういう方針で出したという形にしていただければ、本委員会で議論できると思う。ここですべてについて議論を行うと効率的にはなりえない。

(宮原) 培養法を基本にということ合意されたが、厚労省との合意では、迅速検査法を依頼さ

れている。これについては、どういった方針で決めていけばよいか。

(山本) 同時並行的にということによいと思う。ただし、現状の通知法より早い方法ということで迅速検査法としていいのか、ということも疑問が残る。

(宮原) 実際問題として、日本の魚介類に関する迅速法を対応すべきかと思うのだが。

(松岡) ここでいう迅速法はどの程度のものを意味しているのか？

(宮原) 1日くらいであれば問題ない。

(松岡) 培養法が入っても問題ない？

(宮原) そうです

(伊藤) 培養法と同時並行であるのは非常に難しい。ある程度これはいけるという迅速検査法があればいいが。リアルタイムで100CFUという数字は担保するのが難しい。

(甲斐) 損傷菌の問題もある

(伊藤) 更に、DNA ベースでは死菌を拾ってくる可能性もある。

(塚本) 方法論としての迅速法はいいが、広く普及する標準検査法としてはどこでも誰でもできる方法でなければならないと思う。

(伊藤) スクリーニング法としてあるところに迅速検査法を入れていけばいいように思う。いるとなると定量値に入る。

(山本) いるとなった場合、検査に3日を要してしまう。これで100CFU以下だったとしても、食品としての利用ができず、結果として問題が残る。もちろん、100CFUを境界として、迅速に判定できるスクリーニング法ができれば理想的ではあるが。

(浅尾) 100CFUでのスクリーニングは難しい。

(甲斐) 食品の直接的なスクリーニングは難しい。現在の規格は甘いから思うが、現在はこの規格で違反となることはまずない。

(宮原) 100CFUとしての規制と、無菌海水を使用したから現在は減ったのかもしれない

(松岡) 100CFU以下として生菌を確認することは可能であると思う。誰がやってもできるというわけではないが、具体的に腸炎ビブリオを対象とした方法について、公募すれば、恐らく「できる」という提案が出てくるのではないかと思う。

(五十君) 事務局としては、標準法検討委員会としては、ベースを崩す議論はあまりできないわけで、尺度となる培養法作成が前提となる。増菌培地の提案についてはできるが、これで策定された方法論については、すぐには挙げないで、標準法とは別のものとしていきたい。厚労省からできるものについては告示法となるが、ここで議論するプロトコールは標準法としてのもので、迅速法をスクリーニング的に適用できればといった方向性で挙げていただければと思う。

(山本) 確かに迅速法を中心ということになれば、それだけで一つの研究班となるかもしれない。

(五十君) ビブリオについては、早くスタートしたいとのことですので、対象菌種としては腸炎ビブリオに絞った形でいいように思う。2番以降の課題点については、基本的に作業部会で決議し、委員会へ提案していただきたい。

(山本) これらの点については作業部会での協議をいただき、次回の本委員会で決めたいと思う。

#### 4. その他、事務連絡

(五十君) 時間の関係上、ブドウ球菌については清水先生から次回ご報告いただきたい。

(五十君) 旅費申請については、書類に押印後、提出ください。また、次回の委員会開催は、11月22日の予定となっております。会場は今回と同じ場所になります。次回の議題についてもメールを通じてご連絡したいと思います。次回をもって方向性の目途をつけたいと思います。

(山本) 清水先生からのご提案については次回の委員会でご意見をいただければと思います。他にありますか。

(浅尾) 所属について前回、伺いましたが、これでよろしいでしょうか？

(山本) 各先生方にお任せいたします。

以上

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3回検討委員会 議事次第

日時：平成17年11月22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）
2. 配付資料の確認・第2回議事録案の確認
3. 討論  
作成予定の標準法の菌種個別の問題点に関する討論  
標準法作成ガイドラインに関する討論
4. 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三回議事録概要

1. 本委員会の趣旨を受けて、日本食品微生物学会でも“食品の微生物問題検討委員会”ができ、協力関係をお願いできることになったと、委員長から報告があった。
2. 第二回本委員会議事録案および議事録概要案の確認と修正
  - ・標準法作成ガイドラインのステップアップで、第1ステージから、第4ステージのそれぞれのステージで行うことの言い回しを修正した。
  - ・腸炎ピブリオの迅速検査法は、プロトコル作りまでをこの研究班で行う。
3. 本委員会の検討内容は今後の検査法のあり方を議論しているのので、議論を残しておくために、その内容を公開することは意義がある。
4. 本委員会の議事には、会社名等のデリケートな部分もあり、公開が討論の自由度を失う可能性があるため、当面議事録概要版をwebに公開する（国立医薬品食品衛生研究所のホームページを利用する）。
5. 議事録については、公開に関し微妙と思われる内容については適宜訂正し、研究報告書に記録として残しておく。
6. 本委員会へのオブザーバーとしての参加の要望があることに関しては、拒む理由はなく、その人数や参加者の発言については様子を見ながら考える。最初は傍聴募集を行い、試験的に開始する

### 各作業部会の進行状況に関する報告と討論

7. 腸炎ピブリオについては、12月頃に5～6箇所の地方衛生研究所に集まっていたいただき、標準法比較表の作成と意見交換から作業を開始の予定。
8. 黄色ブドウ球菌については、エンテロトキシン検査をどうするか、選択培地の比較、損傷菌対応をどうするかなどの検討を開始した。
9. 国際的なハーモナイゼーションは重要であるので、国際的に広く認められているISO法、AOAC法、FDA法などとの比較表を作業部会が作成し、検体量、培地の選択、各種条件などの項目について作業部会から原案のたたき台を提案する。
10. 検査にあたっては、検体25gで、1:9の増菌培地等を原則として、これを変える場合は、プロトコル作成後にバリデーションを行う。
11. 黄色ブドウ球菌については、まず菌の検査法を検討し、コアグラゼ陽性菌の取り扱いについては作業部会で検討し、エンテロトキシンの取り扱いはオプションとする。
12. サルモネラは、既に4回ほど作業部会を開催し、検討している。現行法では対象食品により方法が異なっていることから、統一可能かをBAM法をベースに検討している。

13. サルモネラは、これまでの作業部会で、5つほど問題点が指摘され、これらを中心に検討を進めている。
14. サルモネラは、現在検討が最も進んでいるようなので次の委員会で原案のたたき台を出す。このとき検討資料として他の標準法との比較表を作る。

#### 標準法作成ガイドラインに関する討論

15. 資料のガイドラインの4つのステージの最後のステージは、“ステージ4”よりも“最終ステージ”のほうがわかりやすい。
16. 各ステージで取り扱う検査法案については、名前の付け方を工夫する。
17. 地方衛生研究所によっては、国から研究費をもらうことに抵抗があるため、コラボが難しいことがある。
18. コラボの実施にあたっては、技量の認定を受けたものが実施することが要請されるが、わが国にはその制度が整備されていないため、この点については今後考えて行かなくてはならない。
19. 検討した標準法と食品衛生検査指針の関係は、今後行政側と調整して行く必要がある。
20. 評価された検査法の問題点が明らかになった場合は、その検査法を改定することが必要で、その改定のプロセスも公開して行うべきである。
21. 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を別紙のように整理した。

## 「食品からの微生物検査標準法検討委員会」第三回委員会議事録

日時：平成17年11月22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 第一会議室

### 出席者

委員長	山本 茂貴	(国衛研・食品衛生管理部)
委員	宮原美知子	(国衛研・衛生微生物部)
	五十君静信	(国衛研・食品衛生管理部) 事務局
	春日 文子	(国衛研・食品衛生管理部)
	荒川 英二	(国立感染研・細菌第一部) 作業部会
	清水 晃	(神戸大学農学部応用動物学科教授) 作業部会
	塚本 定三	(大阪府立公衆衛生研究所) 作業部会
	松岡 英明	(AOACI Japan Section)
	藤井 建夫	(東京海洋大学)
	浅尾 努	(大阪府立公衆衛生研究所・日本食品微生物学会)
	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)

### 欠席者

	高鳥 浩介	(国衛研・衛生微生物部 部長)
	渡辺 治雄	(国立感染研・副所長)
	甲斐 明美	(東京都健康安全研究センター) 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)
	伊藤 武	(財団法人 東京顕微鏡院)
	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)

### 議事

#### 1. はじめに (山本委員長)

(山本) 今回で本検討委員会も3回目を迎える。先日、日本食品微生物学会でも本委員会の開設を報告したところである。食品微生物学会でも検査法検討を始めることとなり(食品の微生物問題検討委員会)、学会理事会でも浅尾先生と共に、近々に検査法の問題を検討することとなっている。本委員会との協力関係についてもはっきりとさせながら、進めていきたい。ガイドライン策定に当たっての第三者機関となりうる他学会として、日本防菌防黴学会、細菌学会などと意見交換を行っていきたい。今回は、ガイドラインを策定する上での具体的なステップアップの方法な

どを含めて検討してもらいたい。

## 2. 配布資料の確認・第二回議事録案の確認

(五十君) 配布資料のご確認をお願いします。資料 A、B、そして宮原先生からご提案いただいたサルモネラ検査法に関する資料の 3 点となります。まず資料 A の 1 ページからの内容については前回の議事録案であり、予めメールにて送付しており、概略としてまとめた資料 B を見ながら、順を追って確認したい。

まず、告知法を告示法に修正、その他言い回しの変更を行った。文書の説明として、5. については、標準法作成においても、こうした議論となりうる案が出てくると思うが、これらは本委員会において討論すべきと思われる。13. の詳細については、3 ページに訂正しており、ご確認の上、ご意見いただければと思う。20. の議事録の公開については本日議論したいと思う。21. の迅速検査法のカテゴリーとの相関性が取れば、こちらで迅速検査法についてビブリオを対象とし、検討していきたい。幾つか落ちている項目があるかもしれないので、ご意見があれば忌憚なくご指摘いただきたい。

(山本) 何か変更・ご意見などありましたらお願いいたします。無い様なので、この時点で前回の議事録を確定したい。後に不備な箇所が出てくれば事務局にご連絡下さい。

## 3. 討論

作成予定の標準法の菌種個別の問題点に関する討論

(山本) はじめに、本委員会において検討される (た) 内容の公開についてご討論いただきたい。今後、ここでの議事録・資料など、公開対象にすべきか否かといった点についてはどうでしょうか？

(宮原) 議論の公開と研究報告書との兼ね合いはどうなるのでしょうか？

(山本) ここでの議事録は途中経過にすぎないので、弊害は生じないと思う。この公開はあくまでも一般からの意見を求めていく為のものであり、整合性は取れると思う。

(宮原) 検査法のガイドラインをきめていくにあたっては一般から意見を求めていくということになるが、研究班としての成果を途中の段階で公開する、特に議事内容全てを公開することにどの程度の意義があるのかは不明な感を受ける。

(五十君) この委員会の議論は民間の微生物検査関連の業者などが直接関係してくる。これらの業者には意見交換に参加したいとの希望が強く、オブザーバーとして会議に参加することができないかという声がある。これをある程度認めることは透明性を担保する上でも必要と思う。もちろん、議論の途中では、このような参加に弊害も可能性としては考えられるので、委員の先生方の意見を頂戴したい。

(山本) そういう意図も、公開にはあろうと思う。もちろん、厚労科研の研究課題ということではあるが、途中での議論の公開が障害となることはないと思う。公開後でも論文投稿に差し支えはないし、特段、特許にからむ場合には報告書にそれを明記する必要もないこととなっている。実際的なことからいうと、この委員会における議論が特許に直接的に絡む可能性は非常に少ないと思われ、通常は公開してもいいのではないかと思う。

(松岡) 今の公開というのは資料 A、B の一方かそれとも両方となるわけなのか？公開には基本的に大賛成である。B の概要のみであれば、問題ないが、A のように発言内容を直接公開するとなると、例えば、発言者の実名は出さないとか、内容によっては適宜削除など、が必要ではないか。

(山本) 確かに、公開は議論を抑える方向に働くこともある。

(松岡) 議論のニュアンスが確認できるという意味では、発言記録の公開は重要である。

(五十君) 研究報告書には資料 A を入れたいと思っている。もちろん、出席者の方々には言い回しなど訂正していただければと思っているが、概要版については、web での公開に回してもいいと思っている。

(宮原) 資料 A を研究報告にということであったが、報告書自体も今は公開されるのでは？

(五十君) 最終的にはそうです。

(松岡) 部分的な文章のみを集約されれば、その背景が見えてこないこともある。

(森) 松岡先生のおっしゃるように、一部のみの集約により解釈を間違える恐れもある。いずれにしてもデリケートなところではある。

(藤井) 議事は、会社名の問題など、非常にデリケートなところも包含しているわけで、こうしたことを公開するのは、討論自体を行うことが非常に難しくなる可能性もある。直接的な記録としては何らかの形で残していなければならないが。

(山本) その他のご意見はありますか？

(松岡) 報告書の形にしる、リアルな形で残しておくことは大事だと思う。そして微妙なニュアンスを含む辺りは適時訂正していいと思う。

(山本) 本会の立ち上げの経緯を記録として残していきたい。これをブラックボックスにしては、意味がなくなる恐れもあるし、最初の段階では概要を公開し、個々の検査法云々には議論のポイントのみを載せるといった形では、どうでしょうか？

(五十君) この委員会での議論をある時点で立ち返ることを想定し残しておくためにも、公開は必要であり、それは概要版のみの公開でも問題ないと思う。もう少し、議論の詳細をみたいという人には報告書を見ていただくということにすればいい。

(森) 多くの人々は概要を知りたいのであろうから、概要を載せていけばよいのでは。

(塚本) 公開には賛成だが、こういった方法で公開を考えていらっしゃるのか？

(五十君) 公開の議論については、ホームページの場所も本日きめていきたいが、国立衛研のトップページからリンクしてアクセスしてもらえばいいと思う。また、厚労省のホームページの食品関連からリンクしてもらえよう後日話し合いをしていきたい。第三者機関についても、本日決定したいと思っているが、ホームページをもっている機関については、リンクを張っていただけると確認したい。

(荒川) 少し話がそれるが、オブザーバーをいれるということは、この研究班の協力研究者となるのかどうか不明だ。また、議事録そのものを公開内容に入れる必要があるかということには、オブザーバーの発言権の有無が絡んでくるように思う。完全な公開では聞きしている人に不信感を抱く可能性もある。議論の途中ででてくるメーカー A、B、C 社などの培地などの比較については、科学的に明らかに証明できれば書いてもいいように思うが。

(藤井) 個々の発言に必要以上に気を使い、わかりにくい情報しか全体としては伝わらなくなる危険性がある。もちろん正論としてはそのとおりだと思うが、

(荒川) 確かに Sensitive な問題だが、透明性を前提として明らかなデータがあるものについては出してもいいのではないか

(藤井) オブザーバーに発言権を設けるかどうかという点も大きく影響する

(浅尾) 行政の方がくれれば問題となることもあるかもしれない。陳情がくることもある。

(山本) 確かに行政官のいるところで培地の優劣を発言することは確かに難しいかもしれない

(五十君) 行政官の道野さんと近藤さんの扱いは、委員とは異なり、行政からということで委員ではないスタイルでお願いしている。オブザーバーの発言権については、どのレベルの方がいらっしゃるかかわからないというところから、発言権の無い形で参加していただくほうが望ましいように思う。もちろん、非公開が好ましいということも、議論の展開によっては対応できると思う。

(山本) それでは公開については概要版を載せ、あまりリアルなところはのせないというところで、よろしいか？全体の文章としては報告書に載せていただくことにしたいと思う。。

(五十君) せっかく確認していただいております議事録であるので、修正など必要に応じて行った後に報告書に出していければと思う。

(山本) それでよろしいか？もちろん委員の皆様には今後も議事録を送付する。また、公開用のホームページとしては国立衛研のトップページを利用する。リンクに関しては、後日報告ということになると思う。

(五十君) 次に第三者機関について、本日確認をしたいと思うが、ご意見を頂けます機関は具体的にどの様な機関が適当でしょうか？現在のところ、日本食品微生物学会、日本食品衛生学会、それから、日本細菌学会などが挙げられている。

(森) 食品衛生登録検査機関協会というところもホームページがあり、こちらにも確認したいと思う。

(山本) その他、日本防菌防黴学会でしょうか。それから、竹田先生がやっていらっしゃった食の安全・・・NPO 法人についても確認したいと思う。衛研微生物技術協議会、日本薬学会、そういったところでしょうか？日本細菌学会については渡辺先生にご相談したいと思っている。食肉衛生検査協議会、それから、検疫所についてもネットワークがあると思う。民間の NPO についてはどうでしょうか？他にあれば次回リストアップしてみたい。

(春日) 検査会社の多くは AOAC に入っているのでしょうか？

(松岡) 入っています。

(五十君) 業界団体があればそこにも声をかけたいとおもうが。

(山本) 食品産業センター、食品衛生協会がこれに当たると思う。

(山本) 最終的にはリストアップされたところに通知したい。オブザーバーにしては一応参加を認めていくという形で、通知を出していきたいが、告示方法が難しいと思う。どうすれば適当か？

(春日) 最後の議事録概要版に、オブザーバーの案内を記載したらどうか？

(宮原) 多数くることもあるかもしれないが、その場合には？

(浅尾) 一度開催したら途中でやめることはできないかもしれないが。

(森) 傍聴のみということで、定員を限定すれば問題ないのでは

(五十君) それならできるかもしれない。要はこの委員会が確固たるものとして機能していればいいわけである。

(松岡) 今までなかったことなので、これは一度やって問題がでてくれば途中で訂正すればいいと思う。新しく作ることであるので、そうした試みを行うことが重要と思う。

(山本) では、次回からオブザーバーを募ってみることも考えられると。

(五十君) そうすると行政官が参加しにくくなるかもしれない。

(山本) 行政官がはいってれば、告示などに直結する懸念を抱かれる立場であることから、確かに来なくなるかもしれない。ましてや、関係業者が傍聴に来れば、行政官はこれなくなるかもしれない。

(松岡) この委員会の立ち上げの趣旨は、そういう点を気にしなければならなかった状況を抜本的に変えよう、ということであって、試験法の Validation の仕方、すなわちプロトコールを作っていく過程から、公開の原則で行く、と理解している。したがって、培地を例に挙げれば、培地メーカーに対しては、培地の条件を明確に示し、また、行政の立場からも、適合培地の判断が公平にできるようにしておくことが、その公開の意味であると認識している。プロトコールの技術的な面についていえば、特定の企業の技術を取り上げることもあるかもしれない。しかし、それに関する議論はあくまでも科学的議論であるべきで、その議論の場には、どの企業でも、どなたがオブザーバーでも、そして行政官も、立場は気にせず参加できる形が望ましい。

(山本) オブザーバーについてはきていただくということで、発言については、拒むものではないが、一回目は傍聴という形で行えればと思う。

(五十君) 準備の関係もあるので、マックス 10 名ということで、もし多ければ変更も行うということで、やっていきたい。次回は 1 月もしくは 2 月に、委員会を開催する予定である。公開については 1-2 回の委員会の概要についてホームページ上にできるだけ早期にアップしていこうと思う。

(宮原) それらの時期はいつ頃か？概要公開は、これは遡ってということになるのか？

(五十君) そうです。ひとまずはこれまでの概要版を衛研のホームページにヘルプデスクに連絡して公開する準備を進めたいと思う。

(山本) 以上で公開に関する議論を終わりたい。

(山本) 次に、個別の議論に入る。甲斐委員からの資料で、前回途中で終わってしまった内容があったと思うが、事務局から連絡していただく。

(五十君) 資料 A.13 ページについてご覧ください。前回の甲斐委員からのご質疑の中で、対象菌を腸炎ビブリオのみとして、検査法の検討を行うということで、そこは解決したと思う。以降の議題は時間の関係で止まっていたので、続きを確認したい。また、厚労科研では迅速検査法のカテゴリーが来年度スタートすることになっており、ビブリオ検査法の迅速化ということについてはこちらのカテゴリーから平行して検討していただければと思う。ビブリオ検査には対象食品が生鮮食品であるということから、迅速性が望まれるが、標準検査法としては培養法をベー

スに考え、迅速検査法の立ち上げがうまくいけば、こちらと平行して行っていければと思う。

(荒川) では4. にあるところでは1. の現行となっている培養法を検討し、迅速法とは分けていただければと思う。

(五十君) それでお願いしたい。

(宮原) この研究班の立ち上げの時に、担当官の方と約束した事項に、腸炎ピブリオの検出の迅速化が含まれている。生ものとしての製品価値と、規格基準の接点を設定する検査法を検討してください。

(荒川) この間、5-6 箇所の地研に集まっていたら、検査法の不具合などについて、12月中旬に集会を開き、意見交換をしたいと考えている。

(五十君) その作業部会の中から、迅速検査法についてもメンバーとして人選をお願いし、別組織として検討していただければありがたい。

(荒川) もちろん、現行の培養法ベースでも初期に汚染があるかないかだけでもわかるような感度の高いものを作っていくかといけないと思う。従って、スクリーニング法としての遺伝子検査法であれば、菌がいるという培養法と相関のとれた方法を作ればと思う。

(山本) まさにそういった内容となれば望ましいと思う。

(荒川) ISO、FDA、AOAC等の方法を比較表として作成し、最終的に進めていきたいと思っている。

(山本) そういった方向で考えていってもらえればと思う。次回にはその方向性を何らかの形でご提出いただくということでお願いしたい。では次に、黄色ブドウ球菌について清水先生からお話いただきたい。

(清水) 畜産食品からのブドウ球菌検査法として、問題点などを挙げさせていただいた。一般に市販食品を含めた汚染実態のルーチン検査としてのことと思うが、汚染リスクを考えると、菌培養にエンテロトキシン検出を併せると日数がかかり実用的ではないように思う。コスト面、迅速化、簡素化、精度管理などといったところを併せて考えていきたい。

例えば、と畜場でのと体、ミンチ肉の検査法の絡み等、様々な食品が対象としては考えられるが、個々の食品マテリアルについて夫々方法を出していくのか、それとも大枠をきめてやっていくのか？ サンプルングについても、10g法と25g法がある。多数の検体を扱うのであれば、少量が望ましいが、科学的な証明ができないと難しい。多数の検体を供するというのであれば定性法もあると思う。リンス法でと体を丸ごと対象に検査できる方法もある。分離培地については多岐にわたって市販されているが、これらの検証をすべて行うのは難しいので、国内で汎用されているベアードパーカー、*Staphylococcus aureus* No.110、卵黄加マンニト食塩培地を対象として検討したい。損傷菌検出に有用とされているピルビン酸の添加については、本菌ではあまり有用ではないように思う。検査時間の短縮には、同定法が要となるが、どこまでを規定範囲とするべきか、そして、市販食肉の遺伝子検査によるスクリーニング検査では濃厚汚染食品に限られることから、その導入には前段階として増菌が必要となると思う。

(山本) 数多くのご指摘ありがとうございます。

(五十君) 基本的には、優先順位としては国際的 Harmonization を考慮したいと考えている。国



際的比較対照表を作成し、どの培地を作成し、個々の問題については作業部会で提案していく形にならざるを得ないと思う。エンテロトキシンの検出についてはこの場で意見をいただきたいと思う。サンプリングについては、国内では 25g スタートが食品検査のスタンダードであろうと思うが、こちらできめていただければと思う。

(山本) エンテロトキシン検査とサンプリング量についてどうか？黄色ブドウ球菌の規格基準についてはどうでしたか？

(浅尾) 食肉については、グラム 1000 個以下という規定があったと思う。サンプリング量としては 25g が基本となっている。

(清水) 外国の研究レベルでは、10g が標準と思っていたが。

(浅尾) アメリカでは 50g とする方法もある。最近では 25g がベースである。10g はあくまでも研究レベルでの話であるように思うが。

(春日) スタートが 25g として、1 ロットから何サンプルとるのかというところが問題と思う。

(浅尾) 食肉のブドウ球菌検査に ICMSF の規格を採用しているのは日本だけであったように思う。

(森) 企業からの依頼試験では、何箇所からとってくるというサンプリングの方法をセットに考えることは確かに重要だが、民間の検査法は必ずしも適うところとはならないように思う。

(五十君) であれば、食品検査のスタート地点を何グラムとするか、菌種によって変えたほうがいいのかどうかということでも話したいと思う。

(松岡) 日本では 25g でやっているというのであれば Validation の面からいって問題ない。それで方法としては通用する訳であろうから。但し、そういったサンプルの量は下手をすると、議論の根本となってしまう恐れもある。例えばバイオテロの話になったとき、飲料水から寄生虫、ウイルス、細菌、を同時に 300 リッター回収し、濃縮して検査に回した。これは逆算的に出された数字らしいが、いざ実施するのは非常に難しい。サンプル量の調整は目的に合わせて設置しないと実用的とはならない。行政の方に参加していただきたいと先ほどいったのは、そのことにも関連がある。

(山本) 現在、そうした基準を変えるには食品安全委員会の答申を仰がなければならない。

(浅尾) もし、50g にしたら市販のストマッカーにはいらなないと思うが。

(五十君) 現行基準を変えるほどのことまで設置するというのは弊害も多く、これまでの基準をとっていけば問題はないように思う。

(森) 使用原液をこれまでと同様にし、サンプルを 25g 取れないものについては、1:9 の原則で行えれば問題ないように思う。

(山本) では原則 25g として、1:9 の原則でスタートするということによろしいか。

(春日) 国際的整合性をとる必要がどこで出てくるかについてはどうか？

(松岡) 検査法が正確に機能するか検証する段階で、プロトコールをきめて Validation を行うということによいかと思う。

(山本) プロトコール作成後に Validation を行えばいいということでしょうか？

(松岡) そうです

(浅尾) フランスなどでは 25 グラム以下のものについては、検体としてはふさわしくないという

形もある。ないということはどういうことで取れないのかという問題もあるが

(山本) バルクからのサンプリングということになれば問題ないが、小包装の食品であれば集めて検査しないとイケない。

(森) 例えばお弁当の食材などは非常に小さいことも多い。

(浅尾) 民間の方は、衛生規範をバイブルとしており、滅多に規格違反となるものがでない。そういった問題点もある。

(山本) ではこれについては原則 25 g、1:9 のサンプリングを最終案として採るということでのよろしいか？次にエンテロトキシン検査についてご意見はありますでしょうか？

(宮原) 2000 年の問題を考えれば、社会的にも大きい。エンテロトキシンを対象にいれるべきだと思う。

(浅尾) 通常はああいった問題はでない。きわめて稀な例といわざるをえない。

(山本) 確かに菌が検出されないでエンテロトキシンのみ検出されるといった例は非常に少ない。

(森) 菌と毒素の検出は同時に行う事もあるが、推定汚染も含めて民間では生産・流通業者の判断となってくる訳だが、MINI-VIDAS などを用いた検査法の併用も可能かもしれない。

(宮原) 追加的なものとして考えられるということになるのでしょうか？

(森) 毒素産生菌の代表とするのか、それとも、汚染指標菌の代表とするのか、黄色ブドウ球菌そのものの検査法ということに定義づけを行うのかというところがネックになると思う。

(五十君) 基本的には菌を捕まえることを第一に考えている。今、Non-detectable となっているが、いま毒素検査までセットしてしまうと、すべての食品についてエンテロトキシン検査までやらないとイケないことになる。まず菌の確保をしておいて、その後で毒素をみたほうが、より Reasonable となるのではないかと思う。

(田中) 海外では Coagulase 陽性菌として認識されることが多く、そう考えれば、汚染指標菌としての認識が高いと思う。また、毒素型についても多くあり、この辺は浅尾先生がよくご存知かと思うが、

(浅尾) 毒素は G 型まであるし、デンカ生研のキットでは検出されないものも多い。

(清水) Coagulase 陽性のみで定義してしまうと、*S. intermedium* なども入ってくるので、現場サイドは非常にわかりづらくなるように感じる。*S. aureus* にくくってしまったほうが、より Reasonable と思うが。

(塚本) ブドウ球菌については FDA にエンテロトキシンの検査法が載っている。ゲル沈や ELISA で行っているのが現状で、検出限界が非常に高いところにある。そう考えると、現状では参考程度にそういった項目を設ければよいのではないかと思う。

(山本) まとめると、まずは菌を確保する。対象菌種を *S. aureus* とすべきか、コアグララーゼ陽性菌を対象とすべきかについては作業部会で話し合ってもらいたい。エンテロトキシン検査はオプションとしたい。

(田中) 増菌培養法のところだが、ものによっては他の菌が生えてきて、検出に困難を生じることもある。こうした培地の検討もしていただければありがたいと思う。

(五十君) 検討したい。

## 途中休憩

(山本) サルモネラ検討班からの報告を宮原先生からお願いしたい

(宮原) これまで4回ほどサルモネラ検査法作業部会として、大阪公衛研の3名、日本食品分析センターの中西寿男先生、それに国衛研の宮原の、6名で検討を行ってきた。サルモネラの検査法は平成10年に食肉、13年に液卵の検査法がでている。また、野菜などを含めた汚染実態検査法が出されており、広く行き渡っている。標準法策定にあたっては、国際的整合性の取れた方法を作りたいとの基本的理念から、検討を行い、はじめのページに案を記載させていただいた。比較表作成についても考慮したが、現行法では食品マテリアル毎に方法が異なっており、比較が困難なことから、表とはせず、別記した。基本的にはわが国の方法をBAMの方法に適用できるものとするということで作成した。この方法はS. Typhi, S. Paratyphiには不適であるが、これはBAMでもそのような表記があり、同等と思われる。前培養温度に関してはBAM法では35℃、ISOでは36±1℃だったと思うが、この指摘については後ほど議論してもらいたい。液卵については、RVやTTなどをModifyした方法がISOでは出されているが、このModificationは選択性を図る上ではそれほど優位性がないと思うので、そのまま用いることで検討していきたいと思っている。また、分離培養温度については、さまざまな方法論が出されているが、現場での利便性からいって、一点の42℃とした。作業部会としてはこの案を最終案として出してみた。選択培地については、硫化水素の産生性を別記しているが、食品の汚染実態調査法でも汎用できるものとして、対応できる形を用いるべきか、それとも無視していいか、議論の点となると思う。確認試験については、生化学性状試験により選別を行い、O型はともかく、H型をも型別しなければならないということになると、非常に時間もかかる。食品検査という面から考えれば、サルモネラとしての確定ができればよいのではないかと、従ってO型のみで決定してもいいのではないかとといった意見が出された。こうした最終的な確認試験の点も議論したい。単一の選択培地のみでの検出も考慮に入れたが、聴き取り調査の結果から、RVのみ、TTのみではいずれも網羅できないということで、参考として2種類を用いることとし、先日松岡先生が紹介してくださったAOAC、ISOの方法などから培地の検証をしたが、ISOのほうが若干分離率が高かった。以上が概要であるが、検査法検討にあたっての問題点の詳細については、塚本先生からご紹介いただきます。

(塚本) これまで4回の検討会議で提起された問題点について紹介させて頂きたい。宮原先生のお話にあった通り、食品の対象を畜水産食品と絞った形で検討を行ってきたが、その中で、USDAでの報告として、ジュース類については325gでのサンプリング量を紹介している。これは理論的ではあるが、グラム数が異なることも問題となる。

2点目としては、FDAのBAM-8では食品23項目で分けているがこれらは前培養法が異なるのみである。最も汎用性が高いのはBPWであることから、案としてはこれを入れさせていただいているが、カナダではNBも使用されている。悩みの種となるところでもある。

3点目としては、液卵に対する検査法には硫酸第一鉄をいれるべきとの声があった。これは卵黄などには鉄分があるが、卵白には鉄分がないことからの意見であるが、食品による鉄分含有量の

違いにどのように対応していくべきか。

4 点目には、硫化水素産生株と非産生株両方をとってくるべきか、硫化水素産生株用の培地を 2 倍にしたほうが検出率は上がるのではないかといった声もあった。選択培地についてであるが、FDA で推奨している選択培地は硫化水素産生性の株のみを狙っている。BMLIA、XDA4 の 2 種類は、硫化水素産生株用、そして Bismuth Sulfite Agar などは産生しないものを対象にしているということで、これらの使い分けを行うのか。FDA とカナダは両方をとっている。BAM は硫化水素産生株のみとなっている。

5 点目は選択培地の指定であるが、培地メーカーが指定されるきらいがある。例えば MMCD 培地は日水からしかでていない。プリリアントグリーンは栄研化学からしかでていない。培地指定により、メーカーの指定につながり、営利に絡む危険性を伴うことが予想される。複数の選択肢を残した形での指定としたいと思っている。

その他、BPW の温度は問題ないと思うが、FDA などの方法では前培養をウォーターバスでやることとなっている。温度制御の面からみると正確ではあるが、不便なことは明らかであり、現実性を反映させ、孵卵器ではどうかと思っている。また、サルモネラ検査でどこまでを陽性とするべきかということが問題となる。O・H凝集、血清型まで行うべきか？BAM では H 凝集まで行っているが、市販血清ということになると、混合血清は O 血清型についてのみで、わが国では H 血清型については混合型がない。13 種の H 型別をそこまで行う必要もないと思う。

以上、疑問点を挙げさせていただいた。

(山本) 有難うございました。作業部会として検討をすでに始められ、原案とこれに付随する問題を挙げていただいているようです。

(五十君) 資料 3 ページ以降の内容を対照表にさせていただけると判断しやすくなるのでありがたい。リストの中から 1 種類ということか、複数の選択培地を選ぶのか、そうした議論になる部分かと思う。

(山本) 議論として混乱を招くのは、食品ごとの違いからベースとなるものを作成するのは、大変ということですね。

(宮原) そうです。ISO は 1 種類ということになっている

(五十君) BAM は別して、ISO 法との比較対照を検証してもらえれば有難い。

(宮原) 検討したい。なお、培養温度については、温度そのものよりも幅が大事なようで、これは機器そのものの精度が高いものを要求される。そうした声も上がってきている。細かいところまで議論するのは、研究班で行ってきた。

(五十君) 作業部会では、親委員会で明確に判断できる資料を作成していただきたい。部会案そのものを公開するのではなく、親委員会で公開するにあたって想定される議論をあらかじめ解決し、そこで明らかにできるような形にしたいと思っている。

(森) よりわかりやすいものを教えてほしいということですね。

(五十君) 対象となるわかりやすいものを作成してもらえればと思う。

(山本) 元がこうあった中で、これを選択しましたという根拠となった元データを忌憚なく出しただけであればありがたいと思う。