

## II 分担研究報告

### II-4 標準検査法検討委員会運営

分担研究者 高鳥浩介

## II-4 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 衛生微生物部長

### 研究要旨

昨年度に引き続き、食品からの微生物検査標準法検討委員会を開催し、“食品からの細菌検査標準法作成方針”に従い、それぞれの検査法作りの議論を行った。検討委員会では、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作り、作成方針に従った標準法作成を進めた。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、作成方針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、カンピロバクター検査法については、検討委員会での検討の対象とした。

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作成方針を作成し、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 18 名を“食品からの微生物検査標準法検討委員”とし、行政官 2 名が加わり、委

員会を開催した。本年度は 2 名の委員を追加し専門家は 20 名となった。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続けると共に、サルモネラ、腸炎ビブリオ、黄色ブドウ球菌の3つの検査法について具体的な議論を進めた。本年度は、第五回から第九回まで、5回の検討委員会を開催した。検討委員会は、一般からのオブザーバーとしての参加を受け付けると共に、議論の概要を国立医薬品食品衛生研究所のホームページに公開し、意見を求めている。作成した検査法案は、web 上に公開すると共に関連団体に文書にて意見を求めた。

### C. 研究結果

今後の標準法作成の基準となる“食品からの細菌検査標準法作成方針”を検討し、確定させた。これを基に、サルモネラ、腸

炎ビブリオ、黄色ブドウ球菌の3つの検査法について具体的な議論を進めた。サルモネラ検査法は作業部会案（ステージ2）、黄色ブドウ球菌検査法は、直接平板培養法、選択増菌培養法、MPN菌数測定法の3つの検査法案を作成し、それぞれ原案（ステージ1）として公開した。腸炎ビブリオは、原案が確定し公開の準備中である。カンピロバクター研究班から意見を求められ、カンピロバクター検査法も本検討委員会の方向性で検査法作りを行うことを確認したので、検討委員会で検討を行うこととし、原案（ステージ1）として公開した。

検討委員会では、具体的な検査法作成を進めながら“標準法”作成に当たって守るべき重要な5項目を確認しこの方向性から逸脱しないよう検査法を検討した。細菌検査法策定にあたっての重要な5項目は以下のようなものである。

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。

検討委員会自体の透明性を示すために、委員会の議事録概要は、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。

( <http://www.nihs.go.jp/fhm/kennsahou-i>

[index.html](#)) 検討委員会を傍聴したいという要望が多かったため、オブザーバーとしての参加を認めた。

#### D. 考察

これまで国内の食品における微生物検査法は、作成段階では公開されておらず、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。検討委員会では、検査法作成の初期段階から広く意見をもとめ、国際的なハーモニゼーションを重要視し、標準法は培養法をゴールドスタンダードとするという統一的な方向性を持って検査法作りを進めた。標準法作成にあたっては、それぞれの検査法が同一の方向性を持って作成されていることは重要であり、検討委員会で合意した“食品からの細菌検査標準法作成方針”に従い検査法作成が進められている。サルモネラ、腸炎ビブリオ、黄色ブドウ球菌の3菌種のそれぞれの作業部会は、実験データによる検証を行いながら、検査法作成を担当している。

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、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。検査法の方向性が多くの人に確認さ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、作業部会に於いて実際に実験を行い、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。プロトコルとしては、ほぼ完成する。

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。

これらの各ステージで実際の検査法を作りながら問題点を検討して行き、“食品からの細菌検査標準法作成方針”の妥当性を検証してゆき、必要であれば作成方針に修正を加え、より実行性の高い作成方針とする予定である。

#### E. 結論

昨年度に引き続き、食品からの微生物検査標準法検討委員会を開催し、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進めた。外部の研究班から意見を求められたカンピロバクター検査法についても、検討委員会の方向性に従った検査法作成を行うこととした。

#### F. 健康危機情報

なし

#### G. 研究発表

なし

## 食品からの微生物検査標準法検討委員会名簿（平成 18 年版）

- 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  
第5回検討委員会 議事録

日時：平成18年5月23日（火）午後2:00～5:00

会場：国立医薬品食品衛生研究所 28号館3F 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)
	渡辺 治雄	(国立感染症研・副所長)
	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
	浅尾 努	(大阪府立公衆衛生研究所、日本食品微生物学会)
	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)
	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

	藤井 建夫	(東京海洋大学)
	小崎俊二	(大阪府立大学生命環境科学部)
	品川邦汎	(岩手大学農学部)

## 食品からの微生物検査標準法検討委員会第五回議事録概要

1. 第四回本委員会議事録案および議事録概要案の確認と修正
  - ・ 1頁目の“委員”を“委員会”に訂正
  - ・ 3)の“細菌性食中毒の検査法に関する研究”を“細菌性食中毒の予防に関する研究”に訂正
2. 第四回本委員会では厚生労働科学研究事業「細菌性食中毒の予防に関する研究」の中で検討してきた、生食を対象としたEHECなどの検査法について説明を受けた。現在はコラボに入っており、結果が出た後に本委員会を含め、地研技術協議会等にも意見を求めていると高鳥副委員長より報告があった。
3. これに関しては、審議ではなく報告ということで取り上げたため、本検討委員会に意見は求めないが、コラボ後の報告については、意見交換を行ってゆきたい。

### 討論

#### “食品からの細菌検査標準法作成方針”について

4. 標準法作成の基本方針として、webおよび関連機関に公開することを決定しているので、サルモネラの原案の公開に伴い、“作成方針”の公開を行う予定である。
5. “作成方針”の4つのステージについては、既に議論されているので、その前に行う最初の説明の文章について検討を行いたい。
6. “作成方針”の4つのステージについて再度事務局から説明し、文章の検討を行った。
7. 委員会の名称について確認：委員会では培養できない、例えばノロウイルスなども対象としており、検討委員会としては微生物全般、一方、培養法としては細菌を対象としているので作成方針に従って作るのは、細菌の検査法である。
8. 公開する対象の第三者機関は、2つを例として上げて“等”としているが、今後リスト化する必要がある。
9. 原案の公開期間は、当面1ヶ月程度とし、実施後の状況を見てFlexibleに対応する。
10. 寄せられた意見・疑問などについては、根拠を示す等の回答を行う。
11. 本委員会で議論し、作成するのは食品の日常的な検査法として用いる培養法の標準化であり、疫学的な検査法として食中毒等の原因究明のための細菌培養法とは別個のものであることを再確認した。
12. 本委員会のこれまでの議論から、食品における微生物標準検査法では、迅速法をGolden standardとして適用することは困難であり、培養法をGolden standardとして検査法を検討してゆく。
13. 本委員会での標準法の改正については、迅速検査法のValidationを行うときの基礎となる方法であり、しばしば変えてしまうと、混乱する。スタンダードとして比較的長く用いられる方法とし、その後の検討で改良の必要性がでてきた折には手続きに従って変更を行う。

14. 新しい方法の Validation を行う仕組みがない現状で、培養法を Golden standard として、それと相関が取れるか検討することが、本委員会の本質的な課題であり、標準法は迅速法と比較する基本的方法である。
15. 検出率が最も高い方法が標準法になるとは限らなく、海外の広く認められている標準法と互換性は重要であり、国際的整合性のとれた Golden standard を求めていく必要がある。
16. これまでの議論の内容を“作成方針”の説明文として加える。
17. 将来はリスク評価あるいはリスク管理へ応用する、必要であれば定量的な検査を考えていかなければならないが、当面の本委員会の課題はそのベースとなる方法をまずは作成するというにすることにする。
18. ステージ 2 で公開するのは作業部会の方針により、修正したプロトコールのみ、あるいは、修正の根拠となるデータを含めての公開とする。
19. 最終案については、コラボの結果を、論文投稿などの形で示し、正当性を示す必要がある。
20. 当初の 3 菌種以外でも、本委員会に投げられた場合、4 つのステージをクリアーし、培養法を基準として作成しているのか、そして国際的整合性を考慮しているのかといった要点をこの委員会として、確認し了承されるならば、標準法のリストに加えることができる。
21. 本委員会は、予算が厚労科研である関係上、研究成果の報告に 3 年間のリミットがあり、3 菌種についてはきっちりとしたものを作っていくということも重要である。

#### サルモネラ検査法“原案”について

22. 前回の委員会で、原案としての内容の検討は終了したが、今後委員会が示す検査法における標記は出来れば統一しておきたいことから、今回その確認を行う。
23. 培養温度は、特に問題のない限りは、 $35^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ を基準に考えてゆく。
24. 厚労省が行っている肉や野菜などからのサルモネラの検出データについて、去年は 46 検体でサルモネラが検出された。RVA で 90%、残り 10%は TT で検出可能となっている。
25. 硫化水素の問題については難しい問題だが、非産生菌を含めて検出していかなければならないということで培地を設定している。
26. 培地の保存性に関する意見交換が行われた。
27. サルモネラ検査法原案（ステージ 1）として、公開し、意見を求める。

#### カンピロバクター検査法“原案”について

28. 地研技術協議会のカンピロバクター研究班との協力の下、カンピロバクター検査法を、現在 Web に公開しているところで、本委員会とほぼ同等な手続きを行っている



ので、検討の対象として加えて頂きたい。

29. 培地の選択、性能について意見交換が行われた。
30. 培養時間、温度の設定について意見交換が行われた。
31. 実験結果より、Bolton は温度シフトをいれないで検査を行うこととした。
32. カンピロバクター検査法原案（ステージ1）として、公開し、意見を求める。

#### 作業部会からの報告および意見交換

33. ビブリオの作業部会から次回、原案を出したいと思う。
34. 黄色ブドウ球菌の作業部会からも、次回、原案を出したいと思う。

#### その他

35. 次回の委員会から、一般の希望者をオブザーバーとして本委員会へ試験的に参加することの受付を web 上で行う。

食品からの微生物検査標準法検討委員会  
第6回検討委員会 議事録

日時：平成18年8月2日（水）

会場：国立医薬品食品衛生研究所 28号館3F 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 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 (国立感染症研・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  
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 (大阪府立大学生命環境科学部)  
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)  
松岡 英明 (東京農工大学・工学部、AOACI Japan Section)  
宮原 美知子 (国衛研・衛生微生物部) 作業部会

欠席者

伊藤 武 (財団法人 東京顕微鏡院)  
丸山 務 (社団法人 日本食品衛生協会)  
森 曜子 (財団法人 日本冷凍食品検査協会)  
渡辺 治雄 (国立感染症研・副所長)  
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)

## 食品からの微生物検査標準法検討委員会第六回議事録概要

36. 第五回本委員会議事録案および議事録概要案の確認と修正（各委員から指摘のあった言い回しの修正など）
37. 本委員会の情報が国衛研の Web 上に公開されているということを、広く啓蒙する必要性があると指摘された。
38. 文書による公開先は、現在の 2 箇所に加えて関連団体をリスト化する。

### “食品からの細菌検査標準法作成方針”について

39. 本委員会の根幹となる検査標準法作成方針について再確認を行った。
40. 検査指針に本委員会がかかわっているような印象を受ける部分を修正してはどうか。
41. しばしば混乱しているので食品衛生検査指針は公定法ではないということを、もう少し明確にする文面が必要と思われる。
42. 標準検査法と命名したものについては **Validation** を行っている検査法であることを示した方がよい。
43. “規格試験から食中毒起因菌の原因追求、あるいは食品の品質保証を確認するための検査法”の部分は修正が必要。（事務局案を出す）
44. 標準法は、科学的な根拠をもとに議論して出していく方法なのであるという優位性を述べていいのではないか。

### 黄色ブドウ球菌標準検査法“原案”について

45. 前回配布した資料のように、黄色ブドウ球菌作業部会では選択分離培地をはじめ FDA 等のデータを参照に、比較して検査法を検討した。
46. 前回配布した別表にあるように、畜水産食品については緩衝ペプトン水が希釈液として汎用性が高いと思われる。
47. 作業部会としては、今の段階では滅菌生理食塩水を使用したプロトコールということではじめて、食品に依存している増菌法の検証は後で行いたい。
48. 選択培地については、海外との互換性を考えると、**Baird-Parker** を選択する必要がある。
49. FDA,ISO では、コアグラゼを同定に用いるという点では一致した見解が取られているが、FDA 法はラテックス法も使用可能としている。
50. 日本では選択培地に卵黄をいれていますが、海外では入れない。この点をどうするのか。
51. 検出限界をどこに設定するのかにより、検査手法が変わってくる。直接平板培養に用いる量は、0.1ml で良いのではないか。

52. 食品からのブドウ球菌分離では、対象食品の絞込みが重要である。
53. わが国ではこれまで卵黄反応陽性のものについてのみの検出を行ってきたので、衛生検査としての黄色ブドウ球菌検査法ということを示す必要がある。
54. 増菌培地の24時間のデータと48時間の双方で検討しますという説明を補足する。
55. 2つの培地を併記すると、プロトコールのみしか見ない人が多いと思うので、誤解を生じないように、比較検討する箇所については明記する。
56. サルモネラ検査では温度は $35 \pm 1$ ℃、時間は22時間 $\pm$ 2時間としたので、これと表記を合わせる。
57. 損傷菌の問題を考慮することは、重要である。
58. 対象とする食品としては、畜水産食品ということで考える。
59. 接種量については、FDAとの整合性を図るのか、あるいは従来方法である0.1mlを2枚使うのかといった議論も進めていく必要がある。
60. 検体調製でストマッカーを使うのか、ホモジェナイザーを使うのかについては、ストマッカーを使うとする。
61. 以上を考慮し、プロトコールとして文章化したものを作成し公開する。

#### 腸炎ビブリオ標準検査法原案について

62. 増菌培地はコレラ菌などの検査との一本化を考えて、アルカリペプトン水を検討している。

#### 討論など

63. 黄色ブドウ球菌については、エンテロトキシンの扱いをどうするかということは今後議論する予定。
64. ステージ1の段階で既にデータ出しを平行して行い、3年終了時には3菌種について全て検査法を提案する予定で進める。

#### 食品からの腸管出血性大腸菌血清型 O157 及び O26 の検出法に対する意見およびその回答について

65. この検査法については本委員会では検討しておらず、報告を受けたのみであり、パブコメとして意見を述べた。
66. パブコメとしてのコメントは検討委員から数多く寄せられたので、事務局で集約し文書として提出した。
67. 本委員会では考えている標準検査法とは、根本的な方向性や考え方に相違があるため、今回は主に科学的な問題点についてのみコメントとして提出したが、ほとんどの項目につき回答は得られなかった。
68. 検査法に対しては、現在注目されているので、当該検査法についても慎重に対処

していただきたい。

69. 本委員会があるからということで、今後検査法に関する意見がもとめられる可能性はあり、今後の対応について議論する必要がある。

70. 次回は約2ヶ月後の開催を予定。

「食品からの微生物検査標準法検討委員会」

第7回検討委員会 議事録

日時：平成18年10月18日（水）

会場：国立医薬品食品衛生研究所 28号館3F 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	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
	甲斐 明美	(東京都健康安全研究センター) 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
	藤井 建夫	(東京海洋大学)
	松岡 英明	(AOAC Japan international)
	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)
行政から	近藤 卓也	(厚生労働省 基準審査課)

欠席者

	高鳥 浩介	(国衛研・衛生微生物部)
	伊藤 武	(財団法人 東京顕微鏡院)
	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	(大阪府立大学生命環境科学部)
	品川 邦汎	(岩手大学農学部)
	田中 廣行	(財団法人 日本食品分析センター)
	丸山 務	(社団法人 日本食品衛生協会)
	渡辺 治雄	(国立感染研・副所長)
	道野 英司	(厚生労働省・監視安全課)

## 食品からの微生物検査標準法検討委員会第七回議事録概要案

1. 配布資料の確認と第6回本委員会議事録案および議事録概要案の確認と修正（文面の表記等の変更を行った）
2. 現在二枚貝の規格で、大腸菌に加え腸炎ビブリオを検討するよう提案があり、codexで規格を再検討している。このような場合の検査法として研究班の成果が、日本から海外に向けて提案出来るよう期待している。

### “食品からの細菌標準検査法作成方針”について

3. 第六回の議事の中で作成方針に一部修正をという要望があり、意見を集約した形で修正候補を示し修正を行った。
4. 通知法の法的拘束力の確認：法律上の拘束力については告示法のみであるが、通知法は一定の水準を確保するために推奨できる検査法として提示している。従って、これと同等以上の試験法ということであれば、実行することに問題はない。
5. 4をうけて、“告示によって示されたものがわが国の公定法であり、これに準じた形での通知法も含めて”と変更、9行目、15行目の“公定法”を“告示法および通知法”と変更する。計3箇所の訂正を行なう。
6. GLPの議論で、一つの試験法があったときに、それと同様に精度管理されたものであるということであれば、科学的妥当性が担保されることになることと解釈している。
7. 法的な Validation と科学的な Validation には温度差がありそうなので、科学的な Validation については今後検討委員会で議論する。
8. Web上に公開している作成方針は、早急に訂正する。

### サルモネラ作業部会より

9. 未殺菌液卵そして、鳥挽肉のデータをMPNで出した結果、今回の試験法は0.3CFU/g以下でも検出できることがわかり、今秋の日本食品微生物学会で報告済み。
10. Web公開している検討委員会のページに入りにくいので工夫が必要。
11. コラボの必要があるのか、どの様におこなうべきか考えていくべき段階にあるかと思われる。
12. 市販食肉のサルモネラ汚染調査で、培養法とPCR法などについて比較した試験があり、相関性があったということで、検討中である。
13. 食肉と液卵の検査法との間で異なる培地を使用している点については、BPWでの統一を図っている。
14. 本委員会で扱う微生物検査法の問題提起はより大きな視野で捕らえていきたいと考えており、作業部会では、標準的な方法であることを少数のグループとして確認し、コラボの元となるデータを出すことが必須である。
15. 標準法が通知法となるとすると、混乱を避けるため以前の方法を無効にし、新しい方法を示すこととなるだろう。

16. 腸炎ビブリオは、告示法であるが同様に変更可能と考える（法改正も可能）。
17. サルモネラの検査で食肉を対象とした場合には EEM を使うということになっているが、同等性に関して、BPW との比較も行う必要があるか？検討する研究機関で納得できる結果となれば、結構。
18. セレナイトは廃棄の問題があり、社会的な要請も踏まえた検査法が必要と思われる。
19. 従来法は Validation が充分でない方法もあるが告示法や通知法として広く行われてきたという実績があるので、今回標準法として検討している方法と今までの試験法との比較を行う。
20. 現状の方法と新しい方法の比較を中心に試験法を議論していきたい。
21. 試験法を使う立場からみると、方法の変更理由を明らかにすれば、同等というところの意味を考えるための判断基準を示す根拠となると思う。
22. この委員会の作る標準試験法については、何について評価し、何について問題としているのかを明らかにすることが大事で、何をもって同等とするのかということを見ると、データの開示は必要である。
23. “同等である”という定義は難しいので、作業部会のみならず本委員会でも、従来法とのデータを比較し議論する。
24. 理化学試験でも精度は悪くなるが使用が難しいという理由で、試験法を変えているものがある。サルモネラでも、もし比較試験を行えないのであれば、変更理由を明記することで充分である

#### 黄色ブドウ球菌作業部会案について

25. 黄色ブドウ球菌の作業部会では、食肉を検討し、0.1ml 接種、2 枚の直接培養法ではなかなか検出率が上がらないため、増菌培養を用いて検討を行った。
26. 選択分離培地と選択増菌培地の設定を検討中。損傷菌の問題は、Baird-Parker を検討している。
27. ブドウ球菌の選択分離培地には 3 局法というのがあるので、そこではマンニツト食塩培地を使用するように決定したという情報があるので確認が必要。
28. 黄色ブドウ球菌については次回プロトコールを提出の予定。

#### 腸炎ビブリオ標準検査法“原案”について

29. 腸炎ビブリオ検査法では、現行法を改善する必要があるのかという点、検査対象が生鮮魚介類であることから、迅速な検査が必要であるとの観点にたつて標準培養法に関する検討を行っている。
30. 国際的な比較対照表では、方法に大差はない。スクリーニング或いは定量の段階において、酵素基質培地の使用の検討を行った。
31. 酵素基質培地の赤紫色の集落の形成を判定したところ、食品では高い確率で同定できたが、海水では必ずしも良好とはいえない結果であった。



- 3 2. ビブリオの試験法では類縁菌の増殖が出るので、培養時間を短くする必要がある。
- 3 3. 規格基準のある微生物検査告示法で、ゆでだこ、ゆでがに等、複数の項目にわたって腸炎ビブリオ試験法が規定されているが、その試験法は MPN でグラムあたり 100 個となっており、試験法が制限される。
- 3 4. 食材をストマッキングしていく手法自体はこのままで変更の必要はないと思われる。
- 3 5. 培養時間短縮を念頭においた試験法の検討が必要かつ十分な検討項目であると思われる、ChromoAgar の使用を検討する。
- 3 6. 迅速検査法についてはスクリーニング法として遺伝子診断法の導入の有無、食品検査法に遺伝子検査法を導入するのか、導入するとしたらどの時期にするのか議論が必要。
- 3 7. 現在検討中の方法は、現行法を大きく逸脱していない。
- 3 8. 告示法ででている TCBS 寒天の組成と市販品は異なる。自家調整は現実的でなく、市販品を使えるよう融通性を持たせたい。
- 3 9. 腸炎ビブリオの規格基準、グラムあたり 100 という数値の変更は考えないで、MPN 法と定性法をカバーする。
- 4 0. ISO で短時間での培養法が示されているが、7 時間培養ということになると、現場では適用しづらいと考える。
- 4 1. 基本的な検査法は培養法で検討し、次段階で迅速法を考える。
- 4 2. Codex の規制値はリスクアセスメントの結果から、100 個でよいのか議論となるだろうし、病原因子陽性のものを対象とする動きもあり、病原因子を指標とすべきかどうかとも今後の検討対象となるべき課題である。
- 4 3. 食品から TDH 産生菌を検出することは非常に稀であり、これで食品のリスクを担保するかということは食品安全の観点から難しいと思う。
- 4 4. 病原因子を保有する菌と非保有菌の比率については、まだ検討が必要。
- 4 5. わが国での規格を尊重し、検査法を検討する。
- 4 6. 腸炎ビブリオなどは夏場に多く、冬場は滅多にでないが、輸入魚介類などでは、タイなど東南アジア産のものが多くわが国で出回っており、年中問題となる可能性はある。
- 4 7. 遺伝子検出法の導入にあたっては、検討委員会の守備範囲ではないが、今後は議論すべき課題となりうる。
- 4 8. 食品検査にリアルタイム PCR が使えるかなど普及性も要件として議論する必要がある。食品検査用でリアルタイム PCR の機械が入っていないことが多いので実態調査も必要。
- 4 9. 免疫学的検査法については、腸炎ビブリオ全体を対象にするということになると、難しい。

50. 腸炎ビブリオは損傷菌が多ので、PCR スクリーニングの段階で出てくる擬陽性の問題も検討していただきたい。

#### コラボスタディーの行い方について

51. AOAC、ISO におけるコラボスタディーの解説。省略
52. Validation にあたっては、今後 Method Committee や Study Director などの仕組みを新たに取り入れていく必要がある。
53. “同等以上”という言葉は Reference method と相関があるかないかという点で言い換えることができる。
54. アメリカでは Method を提案した人がコラボの費用を持つということが基本スタイルとなっている。日本で新しい仕組み作りを行う場合には、その資本の提供元などを考える必要あり。
55. コラボ参加施設は基本的には、自ら応募する形で実績があれば問題なし、試験を行う Proficiency の問題があるので、98 年くらいから ISO の考え方を導入している。
56. Reference material について、イギリスの企業では外部制度管理として標準微生物サンプルを使用。培地に接種すると、30 個±2 個という極めて高い精度管理を行える Freeze-dry サンプルも市販されている。
57. 本委員会ではコラボをどのように行っていくのかということについて、今後検討していかなければならない。まずはコラボに関する作業部会を作る。
58. 松岡先生を含めたコラボに関する問題を話し合う作業部会を組織する。
59. “毒素産生菌の検査”についての議論は次回以降に行う。
60. 次回は 12 月 20 日の開催を予定。今回と同様に、オブザーバーを若干名募集する予定。

以上

「食品からの微生物検査標準法検討委員会」

第8回検討委員会 議事録

日時：平成18年12月20日（水）

会場：国立医薬品食品衛生研究所 28号館 3F 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)
副委員長	高鳥 浩介	(国衛研・衛生微生物部)
委員	浅尾 勉	(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)
	小久保 彌太郎	(社団法人 日本食品衛生協会)
	小崎 俊司	(大阪府立大学生命環境科学部)
	品川 邦汎	(岩手大学農学部)
	清水 晃	(神戸大学農学部応用動物学科教授) 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	(大阪府立講習衛生研究所) 作業部会
	藤井 建夫	(東京海洋大学)
	松岡 英明	(AOACI 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)	

欠席者

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)
渡辺 治雄	(国立感染研・副所長)
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)

## 食品からの微生物検査標準法検討委員会第八回議事録概要

- 6 1. 配布資料の確認と第7回本委員会議事録案の確認と修正（文面の適切な表現への変更と表記等の修正を行った）
- 6 2. 第7回本委員会議事録概要案の読み上げによる確認と委員からの指摘箇所の訂正。  
“黄色ブドウ球菌検査法原案”について
- 6 3. 対象を畜水産製品とする前提のもとに黄色ブドウ球菌検査法原案を作成した。
- 6 4. 検体量、バッファー、処理は他と同様に行い、菌数測定は乳剤または希釈した乳剤を選択分離培地に塗布しコロニー数の計数により行う。
- 6 5. 選択分離培地は、3%卵黄加マンニット食塩寒天培地と国際的な標準法に用いられている **Baird-Parker** 寒天培地について検討する。
- 6 6. **Baird-Parker** 寒天培地に変更する場合は、根拠となるデータを出すことが必要と思われる、3菌株を用いて5研究室で検討している。
- 6 7. 選択分離培地からの純培養方法は、FDAのBAM法を参照とした。
- 6 8. 同定は、コアグラゼ試験といくつかの生化学性状試験により行う。
- 6 9. MPN3本法による定量試験法については、選択増菌培地の検討により試験法とする予定で、検討を進めている。
- 7 0. 同定のための補助試験のマンニットの嫌氣的分解性試験の是非につき意見交換。
- 7 1. 同定に当たっては、選択培地から直接ではなく、非選択培地で培養の後行った方がよい。
- 7 2. マンニット食塩寒天培地と **Baird-Parker** 寒天培地の検討は、性能に加えて使いやすさ等の要因をふまえて、必ずしも1つに限定する必要はないのではないかと。
- 7 3. 検討委員会の重視している国際的な検査法の整合性等もふまえて、議論してゆきたい。
- 7 4. 現在、現場の多くはマンニット食塩寒天培地を使用しているが、検査機関では、**Baird-Parker** 寒天培地を使用することも増えてきている。
- 7 5. **Baird-Parker** 寒天培地の利点は、検出精度が高いというよりもむしろ菌の識別がしやすいという意見もあった。
- 7 6. マンニット食塩寒天培地は、保存性が高いという利点がある。
- 7 7. 食品検査では、損傷菌対応型の検査法が重要視されてきている。
- 7 8. 食品の検査で実際に、マンニット食塩寒天培地と **Baird-Parker** 寒天培地の両方を用いているが、経験的にどちらの培地にも一長一短があると思うので、多種多様な食品の検査を行うにあたっては、複数の方法が認められる方がよいと思う。
- 7 9. 可能でしたら、両者の検出精度に関するデータを次回以降資料として提供いただきたい。
- 8 0. 黄色ブドウ球菌の検査法は、国際的な標準法と国内の方法が大きく異なっており