

2008J7049A

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

食品における衛生管理手法及び
その精度管理に関する研究

平成20年度 総括・分担研究報告書

(課題番号：H20-食品-一般-012)

研究代表者 五十君 静信

国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部

平成21(2009)年4月

報告書の修正について

当該報告書を、以下の通り修正しました。

文献番号：200837049A

課題番号：H20-食品・一般-012

補助金名：厚生労働科学研究費補助金

研究事業名：食品の安全確保推進研究

年度・研究成果の区別：平成20年度 総括・分担研究報告書

研究課題名：食品における衛生管理手法及びその精度管理に関する研究

研究代表者名：五十君 静信

【修正箇所】

P105 以降を削除。

【修正理由】

著作権の許諾を得ていない論文が掲載されていたため削除した。

平成30年9月26日

研究代表者 五十君 静信

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

食品における衛生管理手法及び
その精度管理に関する研究

平成20年度 総括・分担研究報告書

(課題番号：H20-食品-一般-012)

研究代表者 五十君 静信

国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部

平成21(2009)年4月

目 次

I. 平成 20 年度総括研究報告書	
食品における衛生管理手法及びその精度管理に関する研究	1
研究代表者 五十君 静信	
研究組織	
検討委員会議事録概要	9
II. 分担研究報告書	
1. 食品からのボツリヌス菌検出法	23
浅尾努、高橋元秀	
2. <i>Listeria monocytogenes</i> の標準試験法に関する研究	39
仲真晶子、岡田 由美子	
3. 試験法のメソッドバリデーション	63
松岡英明	
4. 食品検体の処理手法の検討	77
宮原美知子	
5. 衛生指標菌試験法に関する研究	91
伊豫田淳	
6. 衛生指標菌試験法に関する試験法原案 SOP (web には、非公開)	
財団法人日本食品分析センター、財団法人日本冷凍食品検査協会	
腸内細菌科菌群 (増菌培養法、最確数法、集落計数法)	105
大腸菌群 (定性法、MPN 法、Colony-count 法)	121

平成 20 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）
食品における衛生管理手法及びその精度管理に関する研究

総括研究報告書

研究代表者 五十君 静信 国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部

研究要旨

本研究では、食品における微生物試験法のメソッドバリデーションの手法を検討し、統一した方向性を持ち、科学的根拠のある信頼性の高い標準試験法プロトコール作成の方法論を提供し、ボツリヌス菌、リステリア・モノサイトゲネス、並びに大腸菌、大腸菌群などの衛生指標菌の標準試験法を作成すると共に、微生物試験法の技術的なレベルを検証するための精度管理システムの構築に関する基礎的研究を行うことを目的とし、研究を進めた。

食中毒起因細菌の試験法に関する専門家からなる“標準法検討委員会”を組織し、食中毒起因細菌の標準となる試験法がどの様にあるべきかの方向性を確認し、統一した方針に沿って具体的に標準微生物試験法の策定を開始した。試験法作成過程は国立医薬品食品衛生研究所ホームページ上に公開し広く意見を求めた。

研究班の行う当該微生物の試験法作成は、それぞれの作業部会が行い、本研究班の代表、分担、協力研究者が具体的な標準法作成の作業にあたった。各作業部会は、“食品からの細菌標準試験法作成方針”に従い“標準法検討委員会”の評価を受けながら作業を進めた。試験法作成は、H20 年度に原案作成と作業部会案の検討を開始し（ステージ 1～2）、試験法案の個々の問題点に関する検証データの蓄積を行った。

研究分担者：

宮原美知子：国立医薬品食品衛生研究所
衛生微生物部

松岡英明：東京農工大学大学院

高橋元秀：国立感染症研究所細菌第二部

浅尾努：大阪府立公衆衛生研究所

仲真晶子：東京都健康安全研究センター

岡田由美子：国立医薬品食品衛生研究所
食品衛生管理部

伊豫田淳：国立感染症研究所細菌第一部

A. 研究目的

食品における微生物試験法のメソッドバリデーションの手法を検討し、統一した方向性を持ち、科学的根拠のある信頼性の高い標準試験法プロトコール作成の方法論を提供し、ボツリヌス菌、リステ

リア・モノサイトゲネス、並びに大腸菌、大腸菌群などの衛生指標菌の標準試験法を作成すると共に、微生物試験法の技術的なレベルを検証するための精度管理システムの構築に関する基礎的研究を行うことを目的とした。

B. 研究方法

食中毒起因細菌の試験法に関する専門家からなる“標準法検討委員会”を組織し、食中毒起因細菌の標準となる試験法がどの様にあるべきかの方向性を確認し、統一した方針に沿って具体的に標準微生物試験法の策定を進める。試験法作成過程は国立医薬品食品衛生研究所ホームページ上に公開し広く意見を求める。

研究班の行う当該微生物の試験法作成

は、それぞれの作業部会を組織し本研究班の代表、分担、協力研究者が具体的な標準法作成の作業にあたる。各作業部会は、“食品からの細菌標準試験法作成方針”に従い“標準法検討委員会”の評価を受けながら作業を進める。試験法作成は、H20年度に原案作成と作業部会案の検討開始(ステージ1～2)、H21年度は試験法案の個々の問題点に関する検証データの蓄積を基に作業部会案及びコラボ案の作成(ステージ2～3)、H22年度にコラボの実行と試験法の妥当性確認(ステージ4)を行う予定である。これに対応し“標準法検討委員会”は年間5回程度を目安に開催し、それぞれの試験法作成が適切に行われていることを確認すると共に、食品における微生物試験法のメソッドバリデーションの手法を検討しその手法の確立を行う。

他の研究班で食品微生物に関する試験法の作成を行う場合は、その研究班と協力し“食品からの細菌標準試験法作成方針”を基に“標準法検討委員会”が標準試験法の作成の方向性を示す。H20年度に研究協力をお願いした研究班は、“冷凍食品の規格に関する研究班”、“高度衛生管理に適する試験法の検討班”などである。

C. 研究結果

平成20年度は、食品微生物の専門家23人で構成する“標準試験法検討委員会”を組織した。この委員会は年度中に5回開催し、標準試験法特に汚染指標菌試験法をどの様にするかについて重点的に議論を進めた。汚染指標菌の標準試験法は、国際的な標準法であるISO法の導入が必要であると結論した。メソッドバリデーションに関する情報収集を行うと共に、前研究班で検討されたサルモネラ、黄色ブドウ球菌、カンピロバクター試験法のコラボ試験結果を基に、具体的な妥当性確認の方法論に関する議論を進めた。

それぞれの標準試験法プロトコールの作成は、作業部会単位で進めた。ボツリヌス菌(高橋、浅尾)、リステリア・モノサイトゲネス(仲真、岡田)、衛生指標菌(伊豫田、日本食品分析センター、日本冷凍食品検査協会)に関して作業部会の検討を進めた。各作業部会は“食品からの細菌標準試験法作成方針”に従い、試験法作成を開始した(五十君は総括および検討委員会運営)。標準試験法は、対象となる微生物毎の統一的な試験方法作成を優先していることから、検査対象となる食品種の前処理(宮原)、メソッドバリデーション(松岡)に関する検討も行った。

標準試験法検討委員会は、研究代表者五十君が担当し、23名の専門家委員と2名の行政官で構成した。20年度5回の検討委員会を開催。標準試験法作成方針を決定し、それに従い試験法の作成を開始した。他の研究班等で検討中の試験法についても諮問を受け評価した。NIHSJ-1から18まで、試験法の検討を進めており、その状況をwebへ公開した。年度内に以下の5回の委員会を開催した。

2008年6月30日：第15回委員会

2008年8月21日：第16回委員会

2008年10月7日：第17回委員会

2009年1月13日：第18回委員会

2009年2月3日：第19回委員会

それぞれの検討委員会の議事録概要版は、本報告書の後に資料として示した。

ボツリヌス作業部会(高橋・浅尾担当)は、10機関25名の専門家から構成した。海外の試験法は食中毒事例原因究明用で、ISO法にも食品の衛生検査用試験法はない。感染症法上特定2種病原体等であり、菌株等の移動などは困難である。定性試験法と毒素評価法について検討を開始し、検証方法について検討を進めた。

リステリア作業部会(仲真・岡田担当)は、7機関10名の専門家で構成した。CODEXでRTE食品のリスク評価に基づ

く微生物基準が 2009 年最終合意を得ており、その試験法は ISO 法である。そのため ISO 法に準じた試験方法について日本固有な食品を中心に検討を開始した。定性試験法と定量試験法を作成した。

衛生指標菌作業部会（伊豫田・五十君担当）は、7 機関による検討を行った。衛生指標菌・菌群に関し、定性、定量法につき 8 種の ISO 試験法を検討し、原案を作成した。

試験法バリデーション作業部会（松岡担当）は 8 名の専門家で検討した。標準試験法のバリデーション手法の検討を開始した。“標準試験法と同等ないしはそれ以上”の評価方法のガイドライン作りについては海外の情報収集を開始した。精度管理システムの構築に関する基礎的研究についても担当している。

食品前処理作業部会（宮原担当）では、食品の前処理方法による試験法への影響を検討した。多種類の試験法を同時に行うことの可能な前処理方法を試行的に行い評価した。

これらの試験法に関する情報提供を、学会等のシンポジウムや講演会及び関連雑誌の総説で行った。

D. 結論

食品における微生物試験法のメソッドバリデーションの手法を検討し、統一した方向性を持ち、科学的根拠のある信頼性の高い標準試験法プロトコール作成の方法論を提供し、ボツリヌス菌、リステリア・モノサイトゲネス、並びに大腸菌・大腸菌群など衛生指標菌の標準試験法を検討すると共に、微生物試験法の技術的なレベルを検証するための精度管理システムの構築に関する基礎的研究を行った。

E. 健康危害情報

該当なし。

F. 研究発表

論文発表

1. 五十君静信：微生物試験の標準化・日本の状況と今後。日本食品微生物学会誌。25(1)18-22。(2008)
2. 斉藤美佳子、松岡英明 “微生物の迅速検出法” 日本防菌防黴学会誌 36, 99-105 (2008)
3. 斉藤美佳子、松岡英明 “微生物の迅速検出法” クリーンテクノロジー 18 (11), 1-5 (2008)
4. 島北寛仁、斉藤美佳子、松岡英明 “微生物迅速検査装置「バイオプローラ」” 食品工業 51(16), 34-42 (2008)
5. 松村浩介、清水晃、河野潤一、五十君静信：畜水産食品からの黄色ブドウ球菌検出のための選択分離培地および選択増菌培地の検討。日本食品微生物学会雑誌。26(1) : 23-27 (2009)
6. 五十君静信：微生物試験法の国際規格にどう対応していくか。食品と開発。43(5) : 4-6 (2008)
7. 五十君静信：食品からの微生物検査標準法の検討～これまでの経緯とこれからの展望～。月刊フードケミカル。24:No. 7:51-54 (2008)
8. 河野潤一、五十君静信、清水晃：黄色ブドウ球菌の標準検査法の作成。月刊フードケミカル。24:No. 7:62-68 (2008)
9. 五十君静信：食品の微生物試験法を国際規格にどの様に対応していくか。月刊 HACCP。14(12) : 20-29 (2008)

学会発表

1. Matsuoka H, Matsuzaki T, Shimakita T, Saito M: Automatic system for the non-destructive separation of microbial cells from food samples and its applicability to nonculture-to-culture seamless method”, 122nd AOAC International Annual Meeting and Exposition, Dallas (2008.9)

2. 末崎拓広, 島北寛仁, 斉藤美佳子, 松岡英明: 密度勾配遠心分離法に基づく食品中微生物のバイアブルセレーション。日本防菌防黴学会第35回年次大会 (2008. 9)
3. 宮原美知子, 内藤理恵子, 野口陽一郎; 食品中の細菌検査における乳剤の影響の検討。第29回日本食品微生物学会学術講演会 (2008. 11)
4. 宮原美知子: 生肉からの大腸菌検出方法についての検討。第82回日本細菌学会総会 (2009. 3)
5. 森久子, 岡田由美子, 坂口真理, 関龍雄, 澤田千尋, 齋藤利江, 小沼博隆, 五十君静信, 春日文子。ISO法に基づく汚染指標菌検出法の検討及び冷凍流通食品の汚染実態調査 (1)。日本食品微生物学会 (2008. 11)
6. 坂口真理, 岡田由美子, 森久子, 関龍雄, 澤田千尋, 齋藤利江, 小沼博隆, 五十君静信, 春日文子。ISO法に基づく汚染指標菌検出法の検討及び冷凍流通食品の汚染実態調査 (2)。日本食品微生物学会 (2008. 11)
7. 吉田朋高, 河野潤一, 清水晃, 松岡英明, 小林政人, 五十君静信。黄色ブドウ球菌標準試験法のコラボスタディ実験データの統計学的考察。日本食品微生物学会 (2008. 11)
- 毒研究会第21回研修会。青森市。(2008. 8)
5. 五十君静信: 食品の細菌学的試験法の現状と問題点ー食品からの微生物検査標準法検討委員会の検討事項を中心に。平成20年度専門研修「検査技術」。千代田区 (2008. 9)
6. 五十君静信: 食品の微生物試験法を国際規格にどのように対応していくか。ATP・迅速検査研究会 第19回講演会。文京区 (2008. 10)
7. 五十君静信: わが国の食品微生物試験の現状と今後の国際規格への対応。食品開発展2008 記念セミナー。東京国際展示場 (2008. 10)
8. 五十君静信: 食品微生物試験の標準化に向けた我国の取り組み。第30回日本食品微生物学会学術セミナー。静岡市 (2008. 10)
9. 五十君静信: 食品の微生物試験標準法に関する国内の動向。日本食品微生物学会。広島 (2008. 11)
10. 五十君静信: コーデックスにおける食品の微生物規格基準作りの議論から、求められるわが国の微生物標準試験法。食の安全を確保するための微生物検査協議会総会・記念講演会。中央区 (2008. 11)
11. 五十君静信: コラボラティブ・スタディから見えてきたこと2 黄色ブドウ球菌について。食の安全を確保するための微生物検査協議会総会・記念講演会。中央区 (2008. 11)
12. 五十君静信: わが国の食品微生物試験法の現状解析から、今後の方向性を考える。全国農協乳業協会セミナー。千代田区 (2008. 11)

シンポジウム等講演

1. 五十君静信, 吉田朋高: 食品からの微生物標準試験法における妥当性確認。AOAC インターナショナル日本セッション2008 シンポジウム。(2008. 6)
 2. 五十君静信: 衛生検査の標準法策定の取り組みと精度管理。食品衛生検査セミナー。大阪 (2008. 7)
 3. 五十君静信: 食品の微生物規格の現状と今後の議論。食品流通安全研究会第3回食品安全セミナー。(2008. 8)
 4. 五十君静信: 食品微生物検査における標準法作成の取り組み。東北食中
- G. 知的所有権の取得状況
該当なし。

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
食品における衛生管理手法及びその精度管理に関する研究研究班

平成20年度 研究組織

研究代表者	五十君 静信	国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部
研究分担者	宮原美知子	国立医薬品食品衛生研究所 衛生微生物部
	松岡 英明	東京農工大学 大学院工学府生命工学専攻
	高橋 元秀	国立感染症研究所 細菌第二部
	浅尾 努	大阪府立公衆衛生研究所
	仲真 晶子	東京都健康安全研究センター
	岡田由美子	国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部
	伊豫田 淳	国立感染症研究所 細菌第一部

ボツリヌス試験法作業部会

研究分担者	高橋 元秀	国立感染症研究所 細菌第二部
	浅尾 努	大阪府立公衆衛生研究所
研究協力者	河合 高生	大阪府立公衆衛生研究所
	見理 剛	国立感染症研究所
	石村 勝之	広島市衛生研究所
	小笠原 準	大阪市立環境科学研究所
	鈴木 荘介	日本冷凍食品検査協会 関西事業所
	山口 卓	日本冷凍食品検査協会 仙台検査所
	林 賢一	滋賀県衛生科学センター
	堀川 和美	福岡県保健環境研究所
	門間 千枝	東京都健康安全研究センター
	八柳 潤	秋田県衛生科学研究所

衛生指標菌試験法作業部会

研究分担者	伊豫田 淳	国立感染症研究所 細菌第一部
	五十君 静信	国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部
研究協力者	泉谷 秀昌	国立感染症研究所 細菌第一部
	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

リステリア試験法作業部会

研究分担者	仲真 晶子	東京都健康安全研究センター
	岡田由美子	国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部
研究協力者	樋脇 弘	福岡市保健環境研究所保健科学課
	江渕寿美	福岡市保健環境研究所保健科学課
	中村寛海	大阪市立環境科学研究所
	大塚佳代子	埼玉県衛生研究所
	金子誠二	東京都健康安全研究センター微生物部
	井田美樹	東京都健康安全研究センター微生物部
	竹村 壘	財団法人日本冷凍食品検査協会 関西事業所
	長田共未	財団法人日本冷凍食品検査協会 横浜試験センター

食品前処理作業部会

研究分担者	宮原美知子	国立医薬品食品衛生研究所 衛生微生物部
研究協力者	荒川 英二	国立感染症研究所 細菌第一部

バリデーション作業部会（サルモネラコロラボ作業部会含む）

研究分担者	松岡 英明	東京農工大学 大学院工学府生命工学専攻
	五十君静信	国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部
研究協力者	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
	丹野 憲二	ISO/TC34/SC9 国内対策委員会
	宮原美知子	国立医薬品食品衛生研究所 衛生微生物部

事務および経理担当者

二瓶 幸一	国立医薬品食品衛生研究所	総務部
吉岡 宏美	国立医薬品食品衛生研究所	食品衛生管理部

食品からの微生物標準試験法検討委員会

委員長	山本 茂貴	国衛研・食品衛生管理部
副委員長	小西 良子	国衛研・衛生微生物部
事務局	五十君 静信	国衛研・食品衛生管理部（研究代表、作業部会）
委員	浅尾 努	大阪府立大学（作業部会）
	泉谷 秀昌	国立感染研
	伊藤 武	財団法人東京顕微鏡院
	伊豫田 淳	国立感染研（作業部会）
	岡田 由美子	国衛研・食品衛生管理部（作業部会）
	甲斐 明美	東京都健康安全研究センター
	春日 文子	国衛研・食品衛生管理部
	鎌田 洋一	国衛研・衛生微生物部
	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
	小沼 博隆	東海大学
	品川 邦汎	岩手大学
	高橋 元秀	国立感染研（作業部会）
	田中 廣行	財団法人日本食品分析センター（作業部会）
	丹野 憲二	ISO/TC34/SC9 国内対策委員会
	仲真 晶子	東京都健康安全研究センター（作業部会）
	松岡 英明	AOAC International Japan Section（作業部会）
	宮原 美知子	国衛研・衛生微生物部（作業部会）
	森 曜子	財団法人日本冷凍食品検査協会（作業部会）
	渡辺 治雄	国立感染研・副所長
行政から	江島裕一郎	厚労省・基準審査課
	道野 英司	厚労省・監視安全課

食品からの微生物標準試験法検討委員会第15回議事録概要(2008.6.30)

1. 委員長から、これまで3年間検査標準法の検討を進めてきましたが、今回から新しい先生方を迎え、新たな3年間になります。標準法が出来上がるよう協力宜しくお願いします。
2. 副委員長から、このような標準化検討委員会は新しい試みで、化学物質にもこのような手法が広がれば適切な基準作成が出来ると思います。
3. 行政から、検討された試験法については、通知法にするための手続きを進めたいと思います。
4. 出席の委員はそれぞれ自己紹介を行った。
5. 研究代表者から、これまでの経緯と検討委員会及び厚労科研費研究班について資料を基に説明が行われた。
6. 研究班の分担研究者が作業部会を組織することとその役割分担が示された。
7. 研究班としては、ボツリヌス、リステリア、および汚染指標菌に関する試験法策定、試験法のバリデーション方法、検体の前処理などに関して検討を行う。
8. 配布資料の確認に続き、第14回議事録案の確認を行い議事録とした。
9. 第14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4箇所の訂正を行い、議事録概要とした。

“検討委員会に関する確認”

10. 作業部会は試験法案の提案および検討データ作成などを担当し、検討委員会は作業部会の提案を受け、作成方針に従い適切なバリデーションが行われるように誘導する。
11. 検討委員会は標準法としての要件を議論しており、統一した方向性の試験法が作成されるようにする。

“サルモネラ標準試験法について（ステージ4）”

12. コラボ案については終了しており、前回の指摘箇所を修正し最終案とする。
13. その修正案を検討委員会で承認し、web上に公開し、意見（パブコメ）を集め、最終試験法とすることになる（ステージ4）。
14. コラボ案は公開されているので、ステージ4での修正は指摘事項への対応など最小限とする。
15. 標準法を作って迅速法との比較に用いるのが最終目的だが、これまでの方針では、検体処理方法については議論されていない。
16. 通知法とするならば、検体の処理方法についての検討が必要と思われる。
17. 食品の検査では検体採取法や検体処理が試験結果に影響を与える重要な部分で、それぞれの食品に関する処理方法の検討は今後前処理の作業部会が検討する。
18. 今回作成したのは試験法で、検出するためのプロトコール。一方、検査とは規格基準の判定基準となるサンプリングプランや試験法を指す。

19. 最終案の資料の読み上げと解説。
20. 作業部会で検討はしたが、コラボで実施していない培地の組合せをどのように扱うのか、全て使用可能にするのであれば、バリデートは各試験機関に任ずるのか。検討委員会で方針を決めるべき。
21. コラボで評価した培地はわかるように工夫する。
22. 検討委員会で出された意見を反映した最終案をホームページに示し、一般からの意見をいただく。

“黄色ブドウ球菌コラボの途中報告”

23. 3月に行われた黄色ブドウ球菌の定量法のコラボの概略と統計処理の結果について、資料を基に説明が行われた。
24. ベアードパーカー（BP）と卵黄加マンニット食塩寒天培地（MS）を用いて評価を行ったが、同一検体を両培地に接種する方式のため、計測数が補正されている可能性が疑われた。（BPの結果を見たことでMSの結果に影響が出た可能性）
25. 今回用いたMSの生培地では、卵黄反応が弱く、典型的な集落の判定が困難であった。
26. コラボの結果の評価で、低濃度群のMSの評価が低くなったのは、生培地の性能の影響があると思われた。
27. 市販の生培地の性能評価を行ったところ、その性能に明らかな差が認められ、標準菌株などを指定しての培地の製品管理が必要と思われた。
28. 以前、作業部会の検討により、損傷菌についてはBPでの検出ははるかに良いことが示されているが、実際の食品の検査で両者の分離結果を検討したデータではBPとMSとの差はほとんど無く、むしろ食品種や共雑菌の種類により、それぞれに一長一短があることが確認されている。
29. 今回のコラボでは、新鮮菌を用いているため損傷菌の影響は確認できない。
30. BPは作成に手間がかかり、保存が利かないため、MSに比べ扱いにくいという意見がある。
31. 定量的な試験では、市販されているシャーレのサイズなどについても規定が必要ではないか。
32. BPでは黄色ブドウ球菌以外のコロニーも小さく発育するため、MSの評価を続けたい。
33. 次回のMPNのコラボでもBPとMSと両方を実施すべきとの意見がでたが、作業量の限界もあり可能な限り検討を行う。

“リステリア試験法原案について”

34. 作業部会からISO法を基に作成した定性および定量法の原案に関する資料読み上げと解説が行われた。
35. 方針としては、ISO法を基に試験法を作成する。
36. ISO法では、酵素基質培地を用いており、37℃の培養を指定しているが、検討委

員会では基本的な培養温度を35℃と統一しているため、今後この点について検討する。

37. 一次増菌後、二次増菌後でそれぞれ画線塗沫することになっているが、手間と経費に見合った結果が出るのか検討してほしい。
38. 提案された原案をステージ1として公開し、作業部会はステージ2の検討を進める。

“これまでに寄せられた意見・質問に関して”

39. 一覧を作成したので、作業部会に回答案を作成してもらい、次回以降検討委員会で確認し、Q&Aの形でweb上に公開してゆく。

以上

食品からの微生物標準試験法検討委員会第16回議事録概要(2008.8.21)

1. 委員長から、今年度から新しいクールとしてはじまりました。まだまだ継続しているものもありますが、意見など宜しくお願い致します。
2. 配布資料3組の確認に続き、第15回議事録案の確認を行い議事録とした。
3. 第15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5箇所の訂正を行い、議事録概要とした。
4. 検討委員会の名称を前回委員会から変えさせていただくこととしました。“食品からの微生物標準試験法検討委員会”に変更させていただきます。

“サルモネラ標準試験法について（ステージ4）”

5. コラボ案を公開したのち変更している点につき最終案の確認を行った。
6. いくつかの指摘を受けたが、配布されたファイルが最終版でないことがわかり、後日最終案を改めて委員に配布し確認を行うこととした。
7. サルモネラとサイトロバクターの見分け方を確認試験の生化学性状に加える（リジン）。
8. 行政から最終案はすぐに通知法として出したいという意見が出されたが、検体処理方法の議論が残されており、その検討を行った後に必要であれば通知法とすることにした。
9. 食品の前処理方法については宮原先生が担当している作業部会で、検討を行う。
10. 委員会に回覧確認し、出された意見を反映した最終案をホームページに示し、一般からの意見を受けたのち、特に問題がなければ標準法とする。

“汚染指標菌の試験法のあり方について”

11. 浅尾委員による問題点の解説（スライド使用による説明）。
12. GLPの内容についてのまとめ
13. SOP（標準作業手順）の作成が大切。しかし肝心の試験法が国際的な方法とはかけ離れており、非常に問題がある。
14. 液体培地法（MPN法）について説明：日本と外国では使う培地が異なる。培地によって判定に必要となる日数も異なる。
15. 平板培地法：これも日本と外国では異なる。
16. 国内の方法は培地への検体接種量を変えて接種して判定する定性法が中心である。
17. 乳剤作製方法が変更されている。冷凍食品の方法は昭和48年に作られ、ホモジナイザーを使用していたが、その後作られた腸炎ビブリオではストマッカーを指定している。
18. 検体の中心部からの採取について、例えばちくわの中心部から採取など現実的ではない。
19. 2006年にEUでつくられた指標（Microbiological criteria）と日本の指標を比較してみると、20～23のような問題点がある。

20. 衛生指標菌の用語の混乱がある。
21. GLP に対応するのが困難な試験法が記載されている。
22. サンプルングプランが採用されていない。
23. そもそも定性であるので、菌数カウント、計算法がない。
24. 今日は決定するというのではなく、大まかな方向性を決めて、その後作業部会で具体的な作業を行う。
25. 問題点に関し、フリーディスカッションの形式でご意見を出していただきたい。
26. 食品衛生検査指針に示された試験法が公定法と誤解されている。
27. 資料に ISO 法と国内の試験法の違い（28～30）をまとめて示してあります。
28. 日本では希釈水が食品種毎に使い分けしており不便である。
29. 糞係系大腸菌群とありますが、イタリックではない E. coli はこの意味で使用している。
30. 試験日数をそれぞれ示してあるが、検討にはこの日数も考慮に入れていく必要がある。
31. 春日委員より、病原菌以外について Codex ではどう考えているのかの説明が行われた（32～33）。
32. 衛生状態の評価をする試験法：日常汚染のモニタリングをしたり、ロットごとに追跡したり、通常の状態でどういう菌がどれくらい存在しているのかとかを調べる。
33. n,c,m,M の組み合わせのことをサンプルングプランと呼びますが、前回議事録の検体採取法とは異なる。
34. “汚染指標菌”と“衛生指標菌”だと国際的に見ると意味が違うことがあるので、今後は定義して使いたい。
35. 最近、Codex や欧米で取り上げられているエンテロバクテリアッセイ（腸内細菌科）についても検討が必要である。
36. その他の用語も含めて国際対応できるように、この委員会で定義付けを明確にして欲しい。
37. 委員会で根拠を示して厚労省側に示していくことも大切で、議論して方向性を示して行きたい。
38. 検査を行う側としての意見（39～45）。
39. ①公定法にのっとった方法、②国の指定したものの縛りを受けない方法、の2つがあって、別なものとして検討して欲しい。
40. 外国から多く入ってくる食品のため外国とのやりとりが多く、日本の方法を伝えるのが大変。
41. ISO 何番でやるというふうに答えられるのが分かりやすい。
42. 日本に輸出する場合は日本の方法でやってくれというリクエストもあるので大切だと思う。
43. 国際的な方法と大腸菌に対する考え方の違いからトラブルになったりする。
44. 命令検査のしぼりがあり、輸入国の業者さんとの意見の違いでしばしばもめることがある。

45. JIS 用語集にはサンプリングプランも書いてあるので、JIS の用語集を使いましょうという動きがある。
46. サルモネラやサルモネラ属菌といった表記について、菌の呼び方などは統一したものを示して欲しい。
47. 告示法が書かれているのは一部の食品についてだけなので一般の消費者には解りにくい。
48. ISO ベースで作ることをここで確認できれば、作業部会はその方向性で進めて行きたい。
49. 衛生管理では CODEX と ISO ではどのような関係になっているのか。
50. CODEX は規格・基準を決め、その中で試験法は ISO 何番と示す。試験法自体はバリデートされている試験法で ISO との互換性がとれれば独自の方法を持つことも可能である。
51. ISO はもともとどうやって作ったのか。
52. 乳・乳製品の場合は、以前は IDF、AOAC、ISO の 3 者でドラフトから最終的な標準法までを作成していた。現在の IDF 法は IDF と ISO で相談して作成し、最終的には全 IDF 加盟国の意見を聞いて調整し、確認を得ている。
53. 抗菌の微生物試験法ではあの国のものをベースにして他の国から意見を受け付ける形をとっている。ヨーロッパには機関があってコラボも行われているようである。
54. TC34 では、発言権のあるメンバーとなった場合、試験法案のやりとりは頻繁に行われ、返信のスピードが重視されるため、とても大変であると聞いている。
55. 日本の規格では陰性という表現が使用されているが、これは歴史があると思う。規格として菌数で示すのは試験のバラツキの点で難しいが、陰性という表現の裏に、サンプル量で定量的な意味合いを持たせてある。
56. ISO の定量とは根本的な考え方の違いがあり、総論をちゃんと固めてから、各論に入ったほうが良い。
57. 今日の意見を基に、田中委員、森委員、伊豫田委員、研究班長の作る作業部会で検討を行う。
58. ①外せないものからいくつかプロトコルを作る、②ISO を基準にしていく。

“これまでに寄せられた意見・質問に関して”

59. Q&A は“ご質問ご意見への回答”と変更します。読んでいただいて、次回ご意見をお願いします。
60. 今サルモネラはステージ 4 なので優先して早急に公開したいと思います。

“その他、進行状況など”

61. <リステリア>原案を作成し、8/6 に作業部会を開き、具体的検討事項を決定しました。
62. <ボツリヌス>10 箇所先生方に集まって頂き、どのような方法を用いているのかについて情報を収集しました。試験法のたたき台を出します。

63. <検体処理>色々な希釈液を培地に置き換えたかどうかの試験をし、生菌数に対する影響を見ている。
64. <黄色ブドウ球菌>コラボの結果報告は済んでいる。次の試験を10月すぎに行うように準備を進めている。
65. <カンピロバクター>班会議を開いて、添加回収実験で評価するということが決定しました。

以上

食品からの微生物標準試験法検討委員会第17回議事録概要(2008.10.7)

1. 委員長が出張中のため、副委員長が司会を行った。
2. 配布資料5組の確認に続き、第16回議事録案の確認を行い議事録とした。
3. 第16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9箇所の訂正を行い、議事録概要とした。

“衛生指標菌の試験法について”

4. 田中委員から汚染指標菌の作業部会を9月29日に開催し、今後の汚染指標菌の試験法の検討に関しその方向性を確認したと報告があった。
5. 作業部会としては、国際的な標準試験法であるISO法を検討し、一般生菌数、Enterobacteriaceae、大腸菌の順に検討を進める予定である。
6. Codexの乳児用調製粉乳の微生物基準は一般生菌数とEnterobacteriaceaeが取り上げられているので、これらの優先順位を高くした。
7. 作業部会名の“汚染指標菌”試験法という表現を議論し、とりあえず“衛生指標菌(仮)”とすることにした。
8. 作業部会の名称、関連する言葉の定義については、作業部会で検討し、再度提案してもらうことにした。
9. 作業部会から提案された優先順位で試験法の作成をすすめるが、現在国内で広く用いている大腸菌群試験法をどうするかは今後議論が必要で、もし試験法として取り上げない場合には説明が必要である。
10. 日本の衛生指標菌の試験法は、検体量を調整することにより定量化する方法をとっており、本質は定性に近い。
11. ISO法では、接種検体量を一定とし、培地上に形成された集落数を定量するので、国内の方法と、根本的な考え方が異なる。
12. 病原微生物の試験法では、従来日本で使用していた培地を評価して互換性を示すことが可能であるが、衛生指標菌ではISOと日本の方法では根本的な考え方が異なっていて、双方を近づけていくのは困難である。
13. 検討委員会では試験法を決め、規格は行政に任せる方針で進める。

“メソッドバリデーションについて”

14. 松岡委員からプロトコール妥当性チェック支援プログラムについて資料を用いて解説が行われた。
15. プロトコール妥当性チェック支援プログラムは、PCのプログラムで試験法が妥当であるかチェックするものですが、海外でもまだ出来ていない。
16. PCのプログラム作成までは至らなくても、マニュアル化、フローシートやチェックリスト作成でも有用であると思われる。
17. 作業を進めていただき、次回以降具体的なものを提示していただく。

“その他、進行状況など”

18. <サルモネラ>現在、最終案を調整中、イタリック表現に関する修正が指摘された。
19. <リステリア>8月6日の作業部会後、共通菌株分与の手続きが完了したので、検討実験に入る予定である。
20. <ボツリヌス>10箇所の先生方に集まって頂き、どのような方法を用いているのかについて情報を収集し、試験法のたたき台案を検討中。
21. ボツリヌスは菌の分離と毒素の検出が不可分で、毒素が検出されたところで菌の分離を進める。
22. <検体処理>色々な希釈液を培地に置き換えたらどうかの試験を行い、生菌数に対する影響を見ている。研究班を組まずに基礎データを出す予定。
23. <黄色ブドウ球菌>MPN法のコラボを10月20日から実施します。
24. <カンピロバクター>厚労科研費の品川班で国衛研と地方衛生研究所の10箇所で検討を進めている。自然汚染の鶏肉では充分評価できなかったため、添加回収実験で評価する方針とした。
25. ISOとAOACのハーモナイゼーションの状況について質問があり、松岡委員からハーモナイゼーションは大変であり、これまでにサルモネラでのみ行われたと回答があった。

以上