

201033011A

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22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23(2011)年5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：201033011A

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 22 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】

P63 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22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23(2011)年5月

目 次

I. 平成 22 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、委員会開催状況	
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	21
浅尾努、高橋元秀	
2. <i>Listeria monocytogenes</i> の標準試験法に関する研究	33
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	37
松岡英明	
4. 毒素性細菌の検査法に関する考察	45
鎌田洋一	
5. 衛生指標菌試験法に関する研究	59
伊豫田淳	
日本食品分析センター、日本冷凍食品検査協会	

著作権の問題により、以下は web へは非公開

6. <i>Listeria monocytogenes</i> の標準試験法 (49 ページ)	63
7. 衛生指標菌試験法(49 ページ)	113

平成 22 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進めた。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。H22 年度の試験法作成は、試験法案の個々の問題点に関する検証データを基に作業部会案及びコラボ案を議論し最終試験法とした（ステージ 3～4）。

試験法のバリデーション（妥当性確認）に関しては、ISO 16140 を基に、どのような手順で行ったらよいかをまとめた。

研究分担者：

鎌田洋一：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：大阪府立大学農学部

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

物試験法の策定を進めた。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案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、H22年度はコラボ案の検討及びコラボの実行と試験法の妥当性確認（ステージ3～4）を行った。これに対応し“標準法検討委員会”はH22年度年間7回開催し、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ISO 16140を基に検討しその手法をまとめた。

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した。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”、“毒素産生細菌の試験法に関する研究班”などである。

C. 研究結果

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。この委員会は試験法案を検討し標準試験法策定にあたった。さらに毒素産生性細菌試験法、汚染指標菌試験法のあり方といった課題について議論を進めた。汚染指標菌の標準試験法は、国際的な標準法であるISO法の導入を決めた。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案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）の試験法案について作業部会で検討を行った。その検討内容については各作業部会の分担研究書を確認していただきたい。検討委員会は“食品からの細菌標準試験法作成方針”に従い、試験法作成を進めた（五十君は総括および検討委員会運営）。メソッドバリデーションに関する検討も行った（松岡）。

標準試験法検討委員会の事務局は、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。平成22年度7回の検討委員会を開催した。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進めた。作業部会が機能し、標準法作成が順調に行われたかを評価した。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21まで、試験法の検討を進めて、状況をwebへ公開した。それぞれの検討委員会の議事録概要版は、本報告書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、菌株等の移動などが困難な状況での検討であった。ボツリヌス菌の定性試験法とボツリヌス毒素評価法の原案を作成し検討を進めた。検討の結果、ボツリヌス菌の定性試験法は、ボツリヌス食中毒の発生時に原因食材から菌を分離するための方法としては有用であるが、試験結果により食品の安全性を評価するための食品衛生の試験法としては適さないという結論となった。PCR法を用いたボツリヌス毒素の試験法を作成した。

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した。定性試験法と定量試験法を作成した。選択培地としては、ISO 法で採用されている酵素基質培地に加えて、その性能から同等な性能であると思われる酵素基質培地を追加した。国内でも入手可能な酵素基質培地を追加することができた。

衛生指標菌作業部会（伊豫田・五十君担当）は、財団法人日本食品分析センターと財団法人日本冷凍食品検査協会が中心となり、7 機関による検討を行った。衛生指標菌・菌群としては、推定大腸菌、大腸菌群、腸内細菌科菌群を対象として、定性、定量法につき 8 種の ISO 試験法を検討した。ISO 法に準じた今回作成した標準試験法と、従来の国内の公定法と比較のため、食品 40 検体を用いて、方法の違いによる試験結果を基にデータベースを作成した。120 枚の写真と形成された集落約 800 株について同定し、データベース化を進めた。

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とラボ試験の評価を行った。“標準試験法と同等ないしはそれ以上”の評価の要件に関する考え方を整理した。ISO 16140 を基にバリデーションに必要な内容をまとめた。

毒素産生性細菌（鎌田担当）の試験法のあり方では、毒素に関する試験法も必要であるという方向性が確認された。

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、腸内細菌科菌群など衛生指標菌の標準試験法を検討し策定した。妥当性確認に関する考え方を整理し、必要な内容をまとめた。衛生指標菌試験法については、従来法との比較に関するデータベース化を行った。

E. 健康危害情報

該当なし。

F. 研究発表

論文発表

1. Tanaka Y, Takahashi H, Imai A, Asao T, Kozaki S, Igimi S and Kimura B: Reconsideration of flexibility in verifying rapid alternative food microbiological methods. Food Control, 21:1075-1079 (2010)
2. 五十君静信: コーデックス委員会で新たに設定された微生物基準に関連する病原微生物の国内における調査・研究動向. 食品衛生学雑誌 51(6):J-432-434. (2010)
3. 浅尾努: 食品による微生物 危害の発生と安全確保のための検査. 食品と開発. 46: 37-39 (2011)
4. Saito E, Yoshida N, Kawano J, Shimizu A, Igimi S: Isolation of *Staphylococcus aureus* from raw fish in relation with culture methods. J. Vet. Med. Sci 73(3):287-292. (2011)
5. 浅尾努: 食品微生物検査- 衛生指標菌-. クリーンテクノロジー. 印刷中 (2011)

学会発表

1. Ida M, Shimojima Y, Kaneko S, Higuchi Y, Nakama A and Kai A:

Antimicrobial susceptibilities of *Listeria monocytogenes* isolated from retail beef, pork and poultry in Japan. 17th International Symposium on Problems of Listeriosis. ポルト市. 2010.5

2. OKADA Y, SUZUKI H, MONDEN S, IGIMI S, and OKADA N: RpoN, the alternative sigma factor, is associated with the growth phase transition and pathogenesis in *Listeria monocytogenes*. 17th International Symposium on Problems of Listeriosis. ポルト市. 2010.5
3. 五十君静信, 朝倉宏, 岡田由美子: コーデックス委員会で新たに設定された微生物基準に関連する病原微生物の国内における調査・研究動向。第99回日本食品衛生学会。2010.5
4. 五十君静信: カンピロバクター国際標準試験法と国内における標準試験法の検討。第3回日本カンピロバクター研究会総会。2010.12

講演・研修会等

1. 五十君静信: 微生物試験法の標準化と国際整合性。Ifia Japan 2010・食の安心科学フォーラム 第9回セミナー 食品添加物および食品の規格に係わる微生物試験。2010.5
2. 五十君静信: 微生物試験法の標準化と国際整合性。平成22年度特殊技術研修会。2010.10
3. 五十君静信: 衛生指標菌試験法: わが国の公定法とISO法の比較から見えてきたもの。食の安全を確保するための微生物検査協議会。2010.11
4. 五十君静信: 微生物試験の妥当性確認の要求事項。微生物試験の妥当性確認の進め方セミナー。2011.3
5. 松岡英明: 微生物試験の妥当性確認の進め方と不確かさの推定。微生物

試験の妥当性確認の進め方セミナー。2011.3

6. 田中廣行: 微生物試験の導入にあたり注意すべき手順と評価項目。微生物試験の妥当性確認の進め方セミナー。2011.3

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班

平成22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	鎌田 洋一	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	大阪府立大学/日本食品分析センター
研究協力者	小崎 俊司	大阪府立大学
	幸田 知子	大阪府立大学
	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
	吉田信一郎	日本食品分析センター
	木村由紀子	日本食品分析センター
	山口 聡子	日本食品分析センター

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
	下島優香子	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
門田 修子 国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部

バリデーション作業部会

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
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 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
吉田 朋高 財団法人食品分析開発センター SUNATEC
内田 和之 シスメックス・バイオメリユ株式会社

毒素産生細菌作業部会

研究分担者 鎌田 洋一 国立医薬品食品衛生研究所 衛生微生物部
研究協力者 西川 禎一 大阪市立大学大学院生活科学研究科
池田 高紀 帝塚山学院大学人間科学部

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 田中 廣行 財団法人日本食品分析センター
諸藤 圭 財団法人日本食品分析センター
森 曜子 財団法人日本適合性認定協会
田中 誠 財団法人日本冷凍食品検査協会

事務および経理担当者

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

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
	工藤由起子	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
	齋藤 利江	財団法人日本冷凍食品検査協会
	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	財団法人日本適合性認定協会（作業部会）	
行政から	浦上 憲治	厚労省・基準審査課
	松岡 隆介	厚労省・監視安全課

平成22年度食品からの微生物標準試験法の検討委員会開催状況

第26回検討委員会：2010年5月27日

第27回検討委員会：2010年7月6日

第28回検討委員会：2010年9月2日

第29回検討委員会：2010年10月5日

第30回検討委員会：2010年11月30日

第31回検討委員会：2011年1月26日

第32回検討委員会：2011年2月22日

食品からの微生物標準試験法検討委員会第 26 回議事録概要(2010.5.27)

1. 委員長から、委員の交代について報告があった。
2. 配布資料と第 25 回議事抄録案の確認と、読み上げによる第 25 回議事録概要案の確認を行った。
3. 事務局より、ISO 法を標準試験法とする場合の考え方、サルモネラ通知法、カンピロバクター試験法についての議論を行い、バリデーションに関しては次回にすると討議内容の変更が伝えられた。

“ISO 法を標準試験法とする場合の考え方について”

4. ISO 法の日本語化は、JIS 規格として登録する方法と、JIS としないで単に ISO の和訳とする方法がある。
5. JIS 規格とする場合、主務は経済産業省で JISC の委員会が審議し JIS 化を決定し、国際的にも正式な規格として扱われる。
6. JIS としないで単に ISO の和訳とする場合は、日本規格協会が合意すれば登録できる。
7. JIS 規格とした場合は、閲覧のみは無料、購入しても 2,000 円程度と安価で、コメントを加えることも可能である。
8. ISO の和訳の場合は、英和対訳として購入するので 20,000 円程度と高価で、原文を変更することはできない。
9. ISO 法では国内の固有の食材の検討を行う必要があり、このような食品種は検証データを出す必要がある。
10. ISO を JIS 規格とするには、書類審査だけで行われるが、標準試験法としてはベリフィケーションが必要になる。
11. JIS 規格とする方針で進めたいが、その手続き等に関してはさらに情報収集をする必要がある。
12. ISO 法をそのまま導入する場合、従来の 4 つのステージでの議論を進める必要はない。
13. ステージ 1 で ISO の和訳を JIS 規格とすると提案し、その方向性を確認し、ステージ 3 のコラボ案で検証を行うという案を作業部会で検討する。
14. 内田氏から、ISO リファレンスメソッドの具体的な策定プロセスについて、解説された。
15. 標準試験法を策定する場合のバリデーションについては、ISO 法の例では、それほどハードルは高くない。

“サルモネラ通知法に関して”

16. 本委員会のサルモネラ標準試験法 NIHSJ-1 を公定法とした場合の行政的な問題点について説明が行われた。
17. サルモネラの ISO 法と、標準試験法の同等性を検証し、ISO 法と NIHSJ-1 のど

ちらも使えるようにする。

- 1.8. これまで検討してきた NIHSJ-1 はバリデートされた標準試験法として残す。
- 1.9. サルモネラの ISO 法の和訳を準備できたところで、ステージ 1 として公開することにする。

“カンピロバクター試験法について (ステージ2)”

- 2.0. 作業部会の検討データの説明とコラボ案の提案が行われた。
- 2.1. 鶏肉中の拡張型βラクタマーゼ産生菌(ESBL)の拡大により、ISO 法では、カンピロバクターの検出が難しい状況なので、コラボ案ではプレストン培地とボルトン培地の両方を提案している。
- 2.2. 増菌培地については、コラボの結果を見て最終試験法を判断する。
- 2.3. コラボ案の内容の検討は、次回の検討委員会で行う。

“その他”

- 2.4. 各作業部会の進行状況を確認した。
- 2.5. 次回検討会は7月6日を予定。

以上

食品からの微生物標準試験法検討委員会第 27 回議事録概要(2010.7.6)

1. 委員長および行政より挨拶
2. 配布資料と第 26 回議事抄録案を確認、読み上げによる第 26 回議事録概要案の確認を行い、4 箇所が訂正された。

“試験法のバリデーションについて”

3. 田中委員がバリデーション作業部会で検討した内容について資料を用い説明した
4. ISO 法を日本の標準試験法として導入する際に行うべき検証に関するガイドライン案を今年度中に作成する
5. 食品等事業者が実施する自主検査における試験法選定に関するガイドラインを作成する
6. これらのバリデーションに関するガイドラインの作成は、ISO 16140 に準拠して作成する
7. バリデーション及びベリフィケーションに関する情報収集を続ける
8. 作業部会の資料の最後のページは、非公開データを含むため討論後回収した
9. 平成 9 年に内部精度管理に関する指針が厚生労働省から出されているが、見直しが必要と思われる
10. ガイドラインは、食品企業、登録検査機関で利用できるものを作成する
11. ISO 16140 は代替試験法のバリデーション方法を示しており、採用するキットや迅速法の評価に使用できる
12. 行政に関わる検査は、公定法で行う必要がある
13. 提案された方針が了承され、作業部会は作業を進めることとした

“カンピロバクター試験法について (ステージ 2)”

14. カンピロバクター検討班から、現在の ISO 法に関する問題点が示された
15. ボルトン培地で増菌し、分離培地 mCCDA を用いると ESBL の影響で分離が困難であったが、バツラー培地では分離できた
16. プレストン培地で増菌を行えば、いずれの分離培地でも良好であった
17. ボルトン培地とプレストン培地を比較するプロトコルをコラボ案として提案した
18. 微好気条件の設定のうち、特殊素材の袋を用いた方法は主に検体の増菌時に用いる
19. ISO 法の表はそのまま使うことはできないので、文章で表現する
20. 提案された方法を、コラボ案として公開し、コラボの参加を募集することにした(ステージ 3 へ)

“リステリア試験法について (ステージ 2)”

21. JIS に ISO の和訳に相当する試験法があるので資料として示し、説明した
22. 我国では他の酵素基質培地が一般的に使用されているので、JIS 法にこの培地が追記できるか検討し、結果が良ければ追記する

23. 我国特有の食品であるマグロのすき身を用いた定量試験をプレラボとして検討した
24. 検討した選択培地を JIS 法に加え、ステージ 3 のコラボ案として提案したい
25. リステリア試験法は、ISO 法をそのまま和訳したものが JIS 法であり、このまま使用するならばコラボは必要ない
26. 培地を追加するならば、バリデーションは必要となる
27. β -リジンディスクの評価時に見られた特殊な株の出現頻度については調査する
28. コラボ案（ステージ 3）とするが ISO には著作権があり、Web 上への公開はできない
29. JIS 版のリステリア試験法の資料は、検討後回収した

“その他、事務連絡等”

30. ISO を JIS 化する場合の手順について行政から調査報告があった
31. JIS 化には二つの方法があり、主務大臣が制定する場合と、民間団体からの申し出によって規定する場合がある
32. 民間団体が原案作成委員会を作り、本検討委員会委員が、関わることは可能である
33. JIS には食品の試験法に関する項目がなく、現在 JIS となっている試験法は培地の工業規格として示されている
34. JIS は食品を対象としておらず、食品規格は JAS で扱う
35. JAS 法は除き、ISO22000 に工業化されるものは記載されており、この項目にないと JIS 化できない
36. JIS 化すれば試験法の購入コストは低いですが、ISO の和訳となると購入コストは高い
37. JIS 化するなら追記することが可能であるが、ISO の和訳となると追記はできない
38. 当面は情報収集して方針を検討する
39. 各作業部会の進行状況を確認した。
40. 次回検討委員会は 9 月を予定。

以上

食品からの微生物標準試験法検討委員会第 28 回議事録概要(2010.9.2)

1. 委員長から挨拶
2. 配布資料と第 27 回議事抄録案の確認、読み上げによる第 27 回議事録概要案の確認を行い、6 箇所が訂正された。

“サルモネラ JIS 法の扱い方及び NIHSJ 法のコロバスタディについて”

3. コロバスタディでは NIHSJ-01 と ISO6579 (JIS K3705)が試験法として同等とみなせるか確認することを目的とする
4. 両方法ともに既にバリデートされている試験法であるため、検討は最小限で行う
5. JIS K3705 をステージ 3 として扱い、複数の試験所の参加によるコロバスタディを行う予定
6. シングルラボバリデーションにより、ある程度検討を行い、コロバスタディにより最終評価を行う
7. コロバスタディでは、シングルラボバリデーションの結果を受けて接種菌数等を設定し、H₂S 産生菌 1 株を用いて試験を実施する予定であることが提案された
8. 今回は、ステージ 3 でシングルラボ及びコロバスタディのデータを評価する
9. コロバスタディの内容については、次回以降再度確認する

“その他、事務連絡等”

10. ボツリヌス作業部会では、PCR 法のプロトコール作成中で、中和試験用の抗血清 C 型、D 型を準備している
11. リステリア作業部会は、次回、酵素基質培地の追加時のバリデーション方法とコロバ試験についての提案をする予定
12. 衛生指標菌作業部会では、ISO 法の和訳を行っている最中で、今後その扱いを考える
13. 次回の検討委員会は 10 月 5 日 (火)を予定

以上

食品からの微生物標準試験法検討委員会第 29 回議事録概要(2010.10.5)

1. 委員長から挨拶
2. 配布資料と第 28 回議事抄録案の確認、読み上げによる第 28 回議事録概要案の確認と修正を行った。
3. 本検討委員会は、微生物の標準試験法を作成することを目的としているため、第 28 回議事録概要から「試験法のバリデーションガイドラインについて」の 7 項目は省くこととした。

“リステリアの試験法について (ステージ 3)”

4. 岡田委員が、配布試料を用いて酵素基質培地などを用いた代替法に関する作業部会の検討結果を説明した。
5. 弱い溶血性を示す株は、酵素基質培地においても典型的なコロニーを形成しにくく、また、寒天平板ではなくパウダーの状態でも保存した培地程ハローが出にくくなる点が指摘された。
6. 弱い溶血性を示す株については、鶏肉からの検出頻度が高い旨を付記することとした。
7. リステリアの標準試験法は、ISO 11290 に準拠、もしくはその和訳である JIS 法に準拠した試験法でありコラボスタディは実施しない。

“サルモネラ試験法の ISO 法との同等性について”

8. 五十君委員が、配布試料を用いて NIHSJ-01 と ISO 6579 が試験法として同等の扱いをするには、どのように評価したらよいか、今後の検討課題について説明した。
9. ISO 16140 の代替法のバリデーションの考え方を採用するが、それぞれの試験法が既に妥当性確認の終わっている試験法であることを考慮し評価する。
10. NIHSJ-01 が基とした AOAC 法と ISO 6579 のバリデーションは既に終了しており、同等性が確認されている。
11. JIS K3705(=ISO 6579)をステージ 3 として扱い、複数の試験所の参加によるコラボスタディを行うこととする。
12. コラボスタディに先立ち、シングルラボバリデーションにて、検討する。
13. コラボスタディでは、ISO 法の 2 つめの選択分離培地として酵素基質培地を選択し、H₂S 非産生株を用いて行う。

“その他、事務連絡等”

14. ボツリヌス作業部会では、型別血清の供給の仕方を検討している。
15. ボツリヌス毒素試験法については次回以降提案の予定。
16. ボツリヌス菌は、菌の分離が難しいので、他の食中毒菌の試験法と同列の試験法提案は難しく、注釈付きの食中毒検査指針レベルのものを提供したい。
17. 衛生指標菌作業部会では、ISO 法の和訳を行っている最中で、ISO 法と日本の衛

生指標菌試験法とを比較検討する。

18. 衛生指標菌作業部会では、食品由来の 675 株を同定し、データベース化を進めている。
19. 次回の検討委員会は 11 月 30 日 (火)を予定

以上

食品からの微生物標準試験法検討委員会第 30 回議事録概要(2010.11.30)

1. 委員長および行政より挨拶。
2. 配布資料と第 29 回議事抄録案を確認、読み上げによる第 29 回議事録概要案の確認を行い、2 箇所が訂正された。

“サルモネラ試験法の共同実験について”

3. 森委員から、“サルモネラ試験法に関する共同実験計画案”について、配布資料を用いて解説があった。
4. 共同実験の目的は、ISO 6579 と NIHSJ-01 の比較とする。
5. 試料の調製について、食品種を豚肉とした場合、脂の少ないロース肉が使いやすいが、新鮮な肉だと時に抗菌作用があるため、あらかじめ添加回収を行う必要がある。
6. 接種菌数については、ピペティングの再現性から菌液中の菌数を算定する。
7. 共同実験参加数は 13 以上とし、1 試験室あたり、6 検体×3 階級（無接種、低菌数、高菌数）で行う。
8. 共同実験には H2S 非産生株を用い、使用株の血清型は、泉谷委員と相談し決定する。
9. 共同実験では血清型別は O 抗原の型別を行い、H 抗原については省略する旨を記載する。
10. ISO 6579 で用いる XLD 培地は、市販の ISO 準拠 XLD 生培地を各試験室に供給する。
11. ISO 6579 の第二選択培地としては、クロモアガーサルモネラを指定する。
12. NIHSJ-01 の選択分離培地は、各試験室が使用を希望する培地を選択し配布する。
13. 共同実験結果の解析では、可能であれば 50% LOD を求める。
14. 試験開始日に関しては、検体受領後速やかに開始とする。
15. ステージ 3 として“サルモネラ定性試験法に関する共同実験計画”をインターネット上に公開し、共同実験参加試験室を募る。

“ボツリヌス菌試験法について”

16. 事務局から、「PCR 法によるボツリヌス毒素遺伝子検出法 (案)」について、配布資料を用いて解説があった。
17. 検出法案は、マウス法に代わるものとして培養上清中のボツリヌス毒素遺伝子の「スクリーニング法」として作成したものであり、最終判定はマウス法の結果とする。
18. ボツリヌス中毒が疑われる食品からの菌の分離に有用な試験法で、食品の安全性を担保する目的の他の標準試験法と同列ではない。
19. 標準試験法として独り歩きしないように注意書きを加えておく必要がある。
20. 本試験法は、培養による標準試験法と区別するため NIHSJ の番号の後、末尾に PCR との記載を入れる。
21. PCR で陽性であっても、ボツリヌス菌は条件が整わなければ発育しないため菌の存在が確認されても、必ずしもその食品が中毒を引き起こすものではない旨を注釈と