

201032011B

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20-22年度 総合研究報告書

(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：201033011B

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 総合研究報告書

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】

P125 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 20-22 年度 総合研究報告書

(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 20-22 年度総合研究報告書 | |
| 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、委員会開催日リスト | |
| 検討委員会議事録概要 | 13 |
| II. 総合分担研究報告書 | |
| 1. 食品からのボツリヌス菌検出法 | 51 |
| 浅尾努、高橋元秀 | |
| 2. <i>Listeria monocytogenes</i> の標準試験法に関する研究 | 79 |
| 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 | 99 |
| 松岡英明 | |
| 4. 衛生指標菌試験法に関する研究 | 119 |
| 伊豫田淳、 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 | |
| 著作権の問題により、以下は web へは非公開 | |
| 5. バリデーションガイド ISO 16140 (89 ページ) | 125 |

平成 20～22 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

総合研究報告書

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。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)を検討した。

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

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、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）を行った。これに対応し“標準法検討委員会”は年間5～7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。3年簡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”、“毒素産生細菌の試験法に関する研究班”、“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年度から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。この委員会は平成20年度5回、21年度6回、22年度7回開催し、試験法案を検討し標準試験法策定にあたった。さらに検体の前処理法、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）。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については別途検討した（宮原）。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。20年度5回、21年度6回、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。

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。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. 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「バイオプロウラ」” 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)
10. 浅尾努: わが国の食品微生物検査の展望、- 日本の衛生指標菌試験法のあるべき姿-、日本食品微生物学雑誌、26:163-167 (2009)
11. 浅尾努, 河合高生: 食品中の食中毒菌検査法 ボツリヌス菌、日本防菌防黴学会誌、印刷中
12. 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)
13. 宮原美知子, 田口真澄, 久米田裕子, 神吉政史, 郡司明彦, 森田友美, 太田順司, 高山正彦, 高須一重, 木股裕子, 塚本定三: 食品からの改良サルモネラ検出法の検討と鶏挽肉および未殺菌液卵でのその評価。日本食品微生物学会誌, 26(No. 2), 107-113 (2009)
14. 浅尾努: 微生物検査の現状とこれから - 衛生指標菌等について-、ソフト・ドリンク技術資料 158:191-206 (2009)
15. 五十君静信: わが国の食品微生物試験法と国際規格対応への動向。ジャパン・フードサイエンス, 48(No. 4): 22-26, (2009)
16. 五十君静信: 食品微生物試験法の国際的手法とのハーモニゼーション。ソフト・ドリンク技術資料, 2009年2号 No.158:183-190, (2009)
17. 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)
18. 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)
19. 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)
20. 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)
21. 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. 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パレーション。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)
 8. Igimi S: Progress for setting up “Standard method” of “Committee to set up Standard method for food microbiology” in Japan. Workshop for method validation for food microbiology. 日本食品微生物学会, 2009.10
 9. 井田美樹, 金子誠二, 仲真晶子, 岡田由美子, 樋脇弘, 江渕寿美, 中村寛海, 大塚佳代子, 竹村墨, 長田共未, 三山九美, 吉田朋高, 五十君静信: リステリア検査用酵素基質培地の検討。第30回日本食品微生物学会, 2009年10月
 10. 河合高生, 内田和之, 山本千景, 山田和子, 小笠原準, 久保田裕子, 浅尾努, 五十君静信, 小崎俊司: 自動菌数測定装置の精度評価法に関する研究—指標菌汚染食品の新規製造法の検討—。日本食品微生物学会, 2009.10
 11. 宮原美知子, 平井昭彦, 小西典子, 甲斐明美, 相川勝弘, 黒木俊郎, 林昭宏, 小笠原邦敏, 高井慎也: 生肉からの大腸菌および腸管出血性大腸菌の簡易検出法の検討。日本防菌防黴学会第36回年次大会, 2009年9月
 12. 宮原美知子: Rapid PCR detection method for bacteria in food。第32回日本分子生物学会年会, 2009年12月
 13. 吉田朋高, 岡田由美子, 松岡英明, 五十君静信: 黄色ブドウ球菌標準試験法(直接平板法とMPN法)のコラボスタディデータの統計学的考察。第30回日本食品微生物学会, 2009.10
 14. 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
 15. 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

16. 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
17. 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
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・スタン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)

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クション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—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)
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)
13. 五十君静信: 微生物検査の標準法作成の進捗状況と国際整合性。ifia JAPAN 2009 食の安心科学フォーラム第8回セミナー安心できる食品の規格と検査。東京。2009.5
14. 五十君静信: 食の安心・安全を考える～食品と微生物の関係～。都民セミナー。東京。2009.8.
15. 松岡英明: 迅速微生物検査技術の開発とバリデーション。日本食品衛生学会第97回学術講演会シンポジウム。東京。2009.5
16. 松岡英明: 微生物検査・測定法とその適用の基本的考え方。日本防菌防黴学会第36回年次大会基礎講座。大阪。2009.9
17. 松岡英明: 微生物試験における不確かさ。JAIMA コンファレンス「セミナー: 分析法の妥当性確認 (Method Validation) の方法と実際」。幕張。2009.9
18. 松岡英明: 微生物標準試験法の開発動向。AOACI 日本セクション・食品分析懇話会2010 合同シンポジウム。熱海。2010.1

19. 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
20. 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
21. 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
22. 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
23. 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
24. 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20-22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 | 宮原美知子 | 国立医薬品食品衛生研究所 衛生微生物部 |
| | 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 | 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 |
| | 岸田 一則 | 千葉県衛生研究所 |
| | 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 |
| | 梅田 薫 | 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 |
| | 畠山 敬 | 宮城県保健環境センター |
| | 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 |
| | 石原ともえ | 神奈川県衛生研究所 |
| | 相川 勝弘 | 神奈川県衛生研究所 |
| | 岡野 洋 | 沖縄県衛生研究所 |
| | 須釜久美子 | 福島県衛生研究所 |

| | |
|-------|-------------|
| 鳥谷 竜哉 | 愛媛県立衛生環境研究所 |
| 小崎 俊司 | 大阪府立大学 |
| 幸田 知子 | 大阪府立大学 |
| 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 |
| | 江淵 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 |
| | 竹村 塁 | 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 |
| | 三山九美 | 財団法人日本冷凍食品検査協会 東京事業所 |
| | 吉田朋高 | 財団法人食品分析開発センター SUNATEC |

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 |
| | 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 | 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・バイオメリュー株式会社 |
| | 丹野 憲二 | ISO/TC34/SC9 国内対策委員会 |

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

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
泉谷 秀昌 国立感染症研究所 細菌第一部
諸角 聖 BMLフード・サイエンス
中川 弘 BMLフード・サイエンス
春被 ゆかり BMLフード・サイエンス
山縣 文夫 東京顕微鏡院
遠山 一郎 東京顕微鏡院
太田 建爾 町田予防衛生研究所
今井 奏子 町田予防衛生研究所
加藤 光徳 国立医薬品食品衛生研究所

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
二瓶 幸一 国立医薬品食品衛生研究所 総務部
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） | |
| 渡辺 治雄 | 国立感染研・所長 | |
| 行政から | 江島裕一郎 | 厚労省・基準審査課 |
| | 浦上 憲治 | 厚労省・基準審査課 |
| | 道野 英司 | 厚労省・監視安全課 |
| | 松岡 隆介 | 厚労省・監視安全課 |

平成20－22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

平成20年度

- 第15回検討委員会：2008年6月30日
- 第16回検討委員会：2008年8月21日
- 第17回検討委員会：2008年10月7日
- 第18回検討委員会：2009年1月13日
- 第19回検討委員会：2009年2月5日

平成21年度

- 第20回検討委員会：2009年6月23日
- 第21回検討委員会：2009年8月20日
- 第22回検討委員会：2009年10月14日
- 第23回検討委員会：2009年11月18日
- 第24回検討委員会：2010年1月15日
- 第25回検討委員会：2010年2月16日

平成22年度

- 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15回議事録概要

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願います。
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すのか。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

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い。
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。