

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. 糞便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らどうかとかの試験をし、生菌数に対する影響を見ている。
64. <黄色ブドウ球菌>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

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日の作業部会后、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つたので、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

## 食品からの微生物標準試験法検討委員会第18回議事録概要

1. 委員長より、議題は盛りだくさんですが、スムーズな進行を行ないたいと思いますのでご協力をお願いします。
2. 基準審査課より、この委員会は今後の食品試験法を確立する上で重要であり、皆さんの専門的な知識をお借りしたいと思っておりますのでよろしくをお願いします。
3. 監視安全課より、標準法の開発は監視の上でも重要ですのでよろしくをお願いします。
4. 3種類の配付資料の確認の後、第17回本委員会議事録案の確認を行い、議事録とした。
5. 第17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1箇所の訂正を行い、議事録概要とした。

### “リステリア標準試験法について（ステージ2）”

6. リステリア試験法は、原案（ST1案）を公開しておりますので、ステージ2の議論に入ります。
7. リステリア作業部会から、検討したデータの報告が行われた。
8. リステリア作業部会では、ISO法をそのまま取り入れていく方針で標準法を検討中である。
9. ISO法のリステリアの定性試験では、ALOA培地という酵素基質培地に加え、パルカム寒天培地とオクスフォード寒天培地の中から一つ選択する。
10. ISO法のリステリアの定量試験では、ALOA培地のみを指定している。
11. これまで他の試験法では培養温度を35℃で統一してきたが、ISO法では37℃を採用しており、酵素基質培地の判定結果は温度の影響を受けると考えられたため、培養温度を35℃と37℃について検討した。
12. 35℃では増殖が遅い、ハローが小さいということはあるが、リステリアはもともと集落の大きがやすいため、培養温度による集落の大きさの差ははっきりしなかった。
13. ST1案では最初の判定が24時間±3時間の判定となっているので、21、24、27、48時間で検討した。
14. 同一の条件で判定した場合、典型的な集落形成までの時間に少し差が見られたが、最終判定の48時間後はほぼ安定した結果が得られた。
15. 37℃では35℃と比べ、早い時間から判定が可能であるが、48時間後であれば35℃と37℃では、ほぼ同様な結果である。
16. 作業部会の検討では、ALOA生培地の成績が良く、培養温度は37℃、培養時間は48時間までの判定が必要という結果であった。
17. 培地の性能評価をするときにどの菌株にするかは重要で、今回はATCC19115と分離株を用いた。
18. 酵素基質培地の選択性によっては雑菌が多い食品からの分離時にリステリア以外の他菌が出てくる可能性があり、選択制の強いパルカムから酵素基質培地に変える場合

は何故変えたのか経緯が判ると良い。

- 1 9. 定性試験では両方使うが、定量試験ではハローが出ないとモノサイトゲネスだけを計数することが難しいため、酵素基質培地を導入する必要がある。
- 2 0. ISO 法を日本語化する場合、どの程度の検討で十分であるか検討委員会で決めてゆく必要がある。
- 2 1. コラボでの菌株の扱いについては、関連各所に確認が必要と思われる。
- 2 2. リステリア作業部会は今日の検討委員会の要望を受け、ステージ 2 の検討を続ける。

#### “共通の培養温度条件について”

- 2 3. 事務局より、これまでのサルモネラと黄色ブドウ球菌の試験法は、培養温度を 35℃と統一してきたが、この培養温度について再考をお願いしたい。
- 2 4. 資料を用いて、検討が必要な理由と想定される選択肢の説明があった。
- 2 5. 第 17 回の検討委員会で、衛生指標菌の試験法は部分的な修正を加えないで、ISO 法を移植する方針で検討することが提案されているが、ISO 法では一般的な培養温度を 37℃としている。
- 2 6. 培養温度の統一は、既に議論がされており、これまでの国内の公定法が 35℃を用いていることから、この温度に統一した経緯がある。
- 2 7. このまま進めてゆくと、35℃と 37℃のインキュベーターを使い分けなければならなくなるため、再検討する必要が出てきた。
- 2 8. おそらく培養温度 35℃と 37℃では、酵素基質培地など特殊な場合を除いてほとんど差は無いと思われる。
- 2 9. この委員会では何を一番重要とするか優先順位をはっきりとすべきで、国際的な整合性を優先させるべきではないか。
- 3 0. 検討委員会の目的は、国内の標準法という試験法の物差しを作ることで、37℃とするには、既に検討が進んでいるサルモネラと黄色ブドウ球菌試験法について何らかの検討が必要となる可能性がある。
- 3 1. サルモネラは既に 35℃で検討しているので、蓄積したデータの重みがある。
- 3 2. 基準となる培養温度については、可能であれば統一することが望ましいので今後議論を続けてゆくことにする。

#### “メソッドバリデーションについて”

- 3 3. 支援プログラムについて松岡委員からスライドによるプレゼンテーションが行われた。
- 3 4. これにより、バリデーションを行う際の評価のための情報として、どこまでがわかっていて、どこまでわからないのかが判断できると思われる。
- 3 5. 試験法を決める議論の過程を公開し、その検討データも見ることが出来るようにすることにより、その後の試験法の検討に役立つ。
- 3 6. もしウェブ上で公開するなら、製品名を出しての性能比較などデータの種類によ

ては公開できないケースもあり、配慮が必要となる

37. 公開するのは、ゴールドメソッドはどのようなものかということを具体的に示すことで、そこに至る過程のデータの全てを公開するわけではない。
38. 次回以降、まだ完成していない部分を含め発表していただくことにした。

“衛生指標菌検査法について”

39. 次回以降、ステージ1の原案を作業部会から提出してください。

“その他”

40. 各作業部会の進行状況の確認を行った
41. 本委員会で検討した試験法は、日本の標準試験法と理解してよろしいでしょうかという質問に対して、そのように考えていると回答。
42. その場合、検体のバリエーションに対応する試験法のエクステンションアイテムを決めておいたほうがよいと提案があった。
43. 試験法は食品基質の影響を受けるので前処理は大変に重要ですが、食品ごとの議論を始めてしまうと、標準法が決まらないので、この委員会では効率を優先して、バーファーを出発点とした標準法作製を優先している。
44. 指摘された問題については、“前処理作業部会”で検討していただく予定である。

以上



## 食品からの微生物標準試験法検討委員会第19回議事録概要

1. 副委員長より、本日は山本委員長が海外出張のため、代わって座長を務める旨挨拶があった。
2. 副委員長も会議が入っており、4時には退席予定で、もし委員会が終わらない場合は事務局に引き継ぐことが伝えられた。
3. 今回は行政から1名の参加、“検討状況を観察して、行政へすぐに反映させることができるので有意義です。ご検討をよろしくお願いいたします”と挨拶があった。
4. 配布資料の確認・第18回議事抄録案の確認をした
5. 事務局より、これまでは議事録案としたが、指摘があり、今後は議事抄録案とする。
6. 読み上げによる議事録概要案の確認を行った。

### “ボツリヌス菌標準試験法について（ステージ1）”

7. 作業部会では通常の食品検査は菌の検査であって毒素の検査ではないので、「ボツリヌス菌試験法」としたい。
8. 海外、国際的な試験法では、FDAとCDCの方法は大差がなく、ELISAを採用しており、日本とは異なっている。
9. ISO、英国、オーストラリア及びニュージーランド、カナダでは、ボツリヌス菌試験法は設定されていない。
10. これまでの試験法では国際的ハーモニゼーションを基本としてきたが、ボツリヌス菌に関しては国際的な方法が無いので、どのような試験法とするか重要である。
11. 事務局より標準法でめざすのは食品の検査時の検出法 (detection method) であり、食中毒事例における原因究明の分離法 (isolation method) では無いことを確認した。
12. 感染症法が変わって、ボツリヌス菌は特定二種病原体等となり、これまでの試験法の妥当性確認のように検体を配ってコラボを行う方法が難しい状況で、どのように試験法の評価を行うのかについて議論が必要である。
13. 毒素型別の血清の入手についても検討が必要である。
14. 具体的なプロトコールは10機関が参加する作業部会で話し合っ、出てきたものについて提案の予定である。
15. ボツリヌス菌試験法では、菌株の特性から培養温度に75～80℃など、幅を持たせざる必要がある。
16. 対象とする毒素型については、今後議論が必要である。
17. 毒素型の判定は、サブタイプの問題があり遺伝子で行うのは難しく、抗血清を用いる必要がある。
18. 次回に作業部会から試験法のフロー図を出してもらって、確認したところで原案(ステージ1)として公開する。

### “メソッドバリデーションについて”

19. 休憩後、副委員長から事務局へ司会を交代し、議事を進める。
20. サルモネラ試験法の検討過程に関するウェブページの紹介・デモンストレーションを行った。
21. 委員会で検討する必要はなく、意見や修正については直接作業部会に伝えることにした。
22. ウェブページは、どのように取り扱うか事務局に一任することにした。
23. 試験法の検討に関する情報を一括して納めておくと、検討委員会での議論で同じことを繰り返さず済むのでこの様なまとめは重要である。

#### “衛生指標菌試験法について”

24. ISO の試験法は有償で著作権があり、単なる和訳は公開して議論できない可能性があるため、その取扱について議論した。
25. リステリアは既にステージ1としてISO法と互換性のある試験法として公開し、議論を進めている。
26. これからの食品の微生物規格は、リスク評価のデータを元に決める流れであり、国際的なリスク評価の終わった規格を導入した方が効率がよいと思われる。
27. 今後、どの程度までが著作権に係わるか調査した上で、対応を考えることとした。
28. 行政からも情報収集していただき、再度検討する。

#### “その他”

29. 各作業部会の進行状況の確認した。
30. リステリア作業部会は、前回の討議内容について作業部会内でディスカッション中である。
31. 検体処理作業部会は、作業中でまだ提案はない。
32. 黄色ブドウ球菌作業部会は、2回目のコラボを実施し、データの評価中で、低い菌数接種群でナチュラルコンタミの判別が問題となっている。
33. カンピロバクター作業部会は、プレコラボを2月に実施し、そのデータ整理を進めている。
34. サルモネラ試験法は、最終ステージであり、通知法として検討中である。

以上

## 食品からの微生物標準試験法検討委員会第20回議事録概要

1. 委員長より、2名の行政官の紹介と、簡単な挨拶があった。
2. 基準審査課から、サルモネラ試験法が最終ステージとなり、この試験法を通知法としたいと思っていると伝えられた。
3. 監視安全課から、国内での食中毒は減りつつあるが、カンピロ等まだまだ問題がたくさんあると挨拶があった。
4. 配布資料の確認・第19回議事抄録案の確認をした
5. 読み上げによる第19回議事録概要案の確認を行った。
6. 第19回議事録概要案の“ボツリヌス菌標準試験法について(ステージ1)”の9, 12, 15番の表現を「ボツリヌス菌」に統一した。  
“サルモネラ試験法について(ステージ4)”
7. 事務局より、サルモネラ試験法について13箇所の言い回し等の修正について、提案があった。
8. 修正したものを、通知法として示す予定であることが述べられた。
9. 修正箇所6番「血清型別をO血清型別」を「O血清群別」に訂正した。
10. 修正箇所8番については、例外があるので修正しない。
11. 表題は、サルモネラ試験法としたらどうかと提案があった。
12. 検討した試験法はバリデートされたという意味で“標準試験法”とすべきであると意見が出された。
13. 試験法では、“注意を要する”という表現(訂正箇所8と9)があるが、これでは通知法とした場合、どのように対処して良いかわからないと指摘された。
14. 血清型別はO多価で評価し、サルモネラ陽性・陰性を決めて良いのではという意見が出された。
15. 同定は、生化学的性状で行うべきだという意見が出された。
16. ONPG陰性ならサルモネラ陽性。ONPG陽性ならばサルモネラ陰性などとして、「注意を要する」のくだりを削除してはどうかと提案された。
17. 多くの意見が出されたが、すべての意見を反映させるのは困難であり、ひとまず、“表現方法について修正が必要である”という意見があったと議事録に残すことにした。
18. 通知法と標準試験法とでは、性状をどこまで調べるかを変えても良いのではないかと意見が出された。
19. O群別まで行う必要があるのかと意見が出された。
20. 地方衛研に夏季一斉取り締まり等の調査で本試験法を実施してもらっているが、特に問題は起こっていない。
21. 事務局から、出された意見をなるべく反映させた通知法としたいので、次回以降改めて検討を行うことにしたいと提案があった。

“黄色ブドウ球菌コラボのデータ解析”

- 2 2. 黄色ブドウ球菌試験法コロバスタディ解析結果について、財団法人食品分析開発センター (SUNATEC) 吉田氏より説明が行われた。
- 2 3. 統計解析は、ISO のガイドラインを基に、AOAC の実施例に従い解析を行った。
- 2 4. 直接平板法と MPN 法について統計解析を実施したところ、外れ値になった機関数は MPN 法に多く、培地では BP でのばらつきが少ないという結果が得られた。
- 2 5. これらの結果を基に、作業部会から次回以降最終案が提案される予定。
- 2 6. 評価方法について基準はあるのかとの質問に対し、微生物ではまだ明確な基準はないとの解答があった。
- 2 7. 外れ値が多い原因は、試験方法に起因するのかという質問に対して、MPN 法では添加菌量が少なく、ナチュラルコンタミの影響があり、そのため分散が大きくなったためと解析された。

#### “衛生指標菌検査法について (ステージ1)”

- 2 8. 作成した原案を資料として配付した。
- 2 9. Enterobacteriaceae(担当：田中委員), presumptive *E. coli*(担当：伊豫田委員) coliforms(担当：森委員)で、3つの菌や菌群を衛生指標菌として原案作成にあたっている。
- 3 0. 一般生菌数については、今後検討していく予定。
- 3 1. ISO で試験法を構築するための課題としては、用語の統一化・菌数算定法・MPN 法が挙げられる。
- 3 2. ISO の現行と一世代前の方法に差があるため、今後検討し、最終的にはコロボ・再現性の確認・日本の食品で検出できることの確認をとることを目的とする。
- 3 3. Enterobacteriaceae は、日本にはない新しい方法なので慎重に行っていきたい。
- 3 4. 原案として HP で示す予定で、今後ステージ2で細かく検討を行っていく。
- 3 5. 用語統一などについては作業部会で検討する。

#### “その他”

- 3 6. 各作業部会の進行状況の確認をした。
- 3 7. リステリア作業部会は、酵素基質培地の性能評価を中心に進めている。
- 3 8. ボツリヌス菌は CDC や FDA よりマニュアルがでていますが、食品から検出する方法はないため、どのように検体から芽胞を濃縮するかを中心に検討している。
- 3 9. ボツリヌス毒素の血清型別用の血清については、行政を含め、今後どのように対処するか検討してゆく。
- 4 0. 検体処理作業部会では、希釈液を BPW に統一して問題がないか、検討中である。
- 4 1. バリデーション作業部会では、コロボのためのレファレンス菌の調製を検討している。
- 4 2. 品川班の分担研究で行われているカンピロバクター作業部会は 10 機関によるプレコロボを 2 月に実施し、そのデータ整理を進めている。

以上

## 食品からの微生物標準試験法検討委員会第21回議事録概要

1. 委員長より、議題がたくさんあるので効率よく検討をお願いしますと、簡単な挨拶があった。
2. 行政官から、サルモネラ試験法の検討が最終版に近づいており、行政に反映させたいと思いますのでよろしくお願い致しますと伝えられた。
3. 配布資料の確認・第20回議事抄録案の発言者不明箇所の特定を試みた。
4. 読み上げによる第20回議事録概要案の確認を行った。
5. “バッファー”を“希釈液”に変更した。  
“標準とする培養温度の統一について”
6. 事務局より、第19回検討委員会で標準とする培養温度の統一について提案を行ったが結論がまとまらなかったため、再度提案と説明。
7. 今後、検討した標準試験法が通知法として行政的に利用されることを想定すると、試験法毎に培養温度が統一されていないことは好ましくなく、これを機会に統一した方向性を示す必要があると思われる。
8. サルモネラ試験法が通知法となると、それ以降の調整は容易ではないと思われ、今回結論を出したい。
9. 試験法の精度の議論では統一した培養温度について結論を得ることが難しいと思われるので、通知法を想定した議論で現実的な結論を出したい。
10. 衛生指標菌はISOをそのまま取り入れる方針となったので、培養温度は37℃となるが、国内では従来食品からの検出は35℃が一般的である。
11. 事務局より、標準とする培養温度を統一することが望ましく、統一した場合の対応について3つのたたき台案が提案された。
12. 甲斐委員から、資料を使って試験法の培養温度の現況について解説が行われた。
13. 日本の場合乳類が32～35℃、冷凍食品35℃、液卵36℃、食肉35℃、添加物30～35℃と幅広い温度帯となっている。
14. ISO法では、ほぼ37℃であるが、30℃、35℃の試験法もある。
15. ISOの黄色ブドウ球菌試験法では、35℃、37℃どちらでも良いとしている。
16. 標準試験法は、現実的には通知法を意識する必要もあり、それを想定すると培養温度はできる限り統一した方が良く、委員から意見が出された。
17. 経験的には、35℃と37℃では、試験精度にはほとんど影響ないと思われるが、もし影響がありそうな場合には培養温度を検討するとし、方針は統一しておいた方が良く。
18. 35℃で一度結論したサルモネラの“標準試験法”は、37℃で行った場合の試験結果については今後どの程度再評価するかは改めて議論したほうが良い。
19. ISOのサルモネラ試験法は、37℃培養を採用している。
20. 今回は通知法において基準となる温度を統一しておくべきであるかを決めたい。
21. 培養温度については、安全性評価は高い温度、品質性評価は低い温度。環境は30℃などと方針を決め、考え方を示して統一すれば良い。

- 2 2. 国際的な協調を重視するのなら、ISO 法をそのまま取り入れるという考え方が良い。
- 2 3. 衛生指標菌については、検討委員会のこれまでの議論で ISO 法をそのまま取り入れようと結論している。
- 2 4. 国内の場合、歴史的には当初、病原菌は 37℃、品質管理では 30℃を採用し、その後、間をとって食品衛生では 35℃に落ち着いたという経緯がある。
- 2 5. 通知法では、温度と時間の論議は割り切るしかないので、この委員会としては方向性をしっかりと決めるべきだ。
- 2 6. 病原菌については、35℃と 37℃、あるいは異なる培地を選択したとしても、実験により妥当性確認をすることが可能である。
- 2 7. 食品衛生法のなかに示されている試験法は今度見直すことが必要で、試験法は法律から外して定期的に見直せるように行政に働きかける必要がある。
- 2 8. BAM 法は 35℃をもちいているので、この方針で 35℃に統一という可能性もある。
- 2 9. 米国も試験法については codex で採用された ISO 法へシフトしつつあるので、ISO 法へ統一してゆくべきである。
- 3 0. 統一するとすれば、委員会としては ISO 法をもとにして検討してゆくという方針とする。
- 3 1. ISO4831 のコリフォーム試験法は改訂時に 35℃が削除され、ISO の中でも 35℃の培養温度はなくなる方向にある。
- 3 2. 事務局提案の選択肢のなかで、35℃と 37℃の培養温度を選択可能とするものについては、試験法の精度管理上好ましくないので、どちらかの温度にすべきである。
- 3 3. 37℃に統一が委員会の基本姿勢とし、35℃でのバリデーションの終わっている試験法は当面 35℃も実行可能とし、最終的には試験法を 37℃に統一して行く。

#### “黄色ブドウ球菌試験法”について

- 3 4. 事務局より、前回の検討委員会で 2 回目のコラボの結果を示し、この結果を受けて最終案を作成したので検討願いたいと提案。
- 3 5. コラボ案からの変更箇所を示した資料を基に、最終案の提案がされた。
- 3 6. 主な修正箇所として、黄色ブドウ球菌の定義に記載していた分類学的考察は削除し、ISO の原文に忠実に直した。
- 3 7. 培地は、作業部会の検討結果とコラボの結果から、BP と MS を選択可能としたが、順位付けをし、BP を第一選択とし MS は代替品とした。
- 3 8. ラテックス凝集反応を必ず入れる表現であったが、これは削除した。試薬の記載も削除。
- 3 9. 定型集落の定義などを ISO 法にあわせた。
- 4 0. ISO、BAM はどのようになっているのか。どこまでが ISO でどこを変更したのかわからないので、資料を示して欲しい。
- 4 1. この検討はステージ 1～2 で既に議論しているので、急に資料として示すのは難しい、資料説明などは次回に持ち越し。
- 4 2. 温度が記載されていない箇所があるので、記入する。

“サルモネラ試験法について”

43. サルモネラ試験法について、現状の試験法との対照表を示し、通知法として生化学性状をどこまで調べなければならないかを確認した。
44. 最終プロトコールでは、非定型の場合は追加試験が必要となってしまう2段の試験となってしまうが、このままとする。
45. 硫化水素非産生の株も拾うので以前の試験法に比べ難しくなっているが、この方法が通知法となれば、一般・液卵・食肉が同一の試験法で行えるメリットがある。
46. 培地や温度が集約されるのは実施する立場ではメリットがある。
47. 試験法の標準となる培養温度を統一したことから、最初の通知法となるサルモネラについては培養温度を37℃とする理由をわかるように、前置きの文章を加える。
48. この場合、猶予、移行期間を設けて37℃に移行していく旨、文章化する。
49. 事務局で前置きの文章案を作成し、委員へ回覧し、文面を確認する。
50. ISOでは見直しが5年ごとにあるので、国内の通知法も試験法の見直しをおこなうなど意思を伝えるべきである。

“その他”

51. 食品微生物学会開催のアナウンスが行われた。

以上

## 食品からの微生物標準試験法検討委員会第22回議事録概要

1. 委員長より、簡単な挨拶があった。
2. 行政官から、試験法の検討は行政に反映できると思われ、委員会に参加することは有意義ですと挨拶があった。
3. 配布資料の確認・第21回議事抄録案及び、読み上げによる第21回議事録概要案の確認を行った。
4. 概要案の“汚染指標菌”を“衛生指標菌”に変更した。

### “サルモネラ試験法について”

5. 培養温度は 35℃でも良いとする移行期を設け、最終的には標準となる培養温度を 37℃に統一する方針とした。
6. サルモネラについては、シングルラボバリデーションなどにより、37℃の妥当性の検討を行う予定。
7. 通知法となる場合は、その出し方については厚労省で議論することになる。
8. 今回の試験法はあくまで食品試験法であって、食中毒の原因究明とは異なり、サルモネラを検出したかどうかを示し、O 抗原まで報告する必要はない。
9. 標準試験法は、他の代替え法の評価に用いるのでサルモネラ検出で充分である。
10. 行政への要望：試験法は定期的な変更が可能なように通知法で示して欲しい。

### “黄色ブドウ球菌試験法”について

11. BAM 法と ISO の比較、これまでの検討履歴、コラボ試験の統計解析結果について資料を基に簡単に解説を行った。
12. 総合的に判断すると、選択培地としてはベアードパーカー(BP)培地がよい傾向だが、マンニット食塩(MS)培地を除外するほどの差は見られなかった。
13. 標準とする培養温度を 37℃に統一したので、フロー図の培養温度を、全て 37℃に修正した。
14. ISO の移植ならば、「黄色ブドウ球菌」ではなく、「コアグラゼ陽性のグラム陽性球菌」であるが、法律上の定義を変えるのは容易ではないためこの表記とした。
15. 衛生検査では分類学ほどの厳密な性状確認は必要ないと思われ、コアグラゼ試験までで良いと思われる。
16. 作業部会の検討結果から、BP を第一選択肢、MS も使用可能としたい。
17. BP 及び MS の本文やフロー図への表現の仕方については次回再度検討し、決定する。
18. 現在ある黄色ブドウ球菌の規格は、平成 5 年の食肉製品の 1000 cfu/g のみであるので、通知とする場合は直接平板測定法(NIHSJ-03)が通知法となる可能性がある。
19. 黄色ブドウ球菌の試験は、日常的衛生管理で頻繁に使われるので、通知法とする場合、食肉製品の試験には BP、その他の衛生管理には MS とするなど、検討する。



20. 直接平板測定法(NIHSJ-03)と ISO 法との相違点は、コロニーの計数法、卵黄液の調整法、コアグラゼ試験（一部 BAM 法を採用、判定は ISO 方式）などである。
21. MPN 法(NIHSJ-05)は、ISO 法で採用している GC 培地による増菌法は肉を用いた場合劣っていたため、BAM 方式を採用、更に食塩濃度を 7.5%に変更している。
22. 黄色ブドウ球菌試験法の検討を開始したのは前の研究班であり、ISO を基にしつつも BAM 法を取り入れさらに改良した形になった。
23. ISO7218 の計算法については、食品微生物学会で来日予定の ISO/TC34/SC9 議長の Dr. Lombard に確認する。
24. 試験法の本体については、菌数計算法とは切り離して議論を進めたい。
25. コロニー計数法については、次回以降検討を行う。

“<その他連絡等>”

26. カンピロバクター、リステリア試験法は次回の検討委員会で作業部会からの提案がある予定。
27. 食品のボツリヌス試験法はまだ世界に例がないので、世界に発信できる試験法を作っていたきたい。
28. 食品微生物学会開催のアナウンスが行われた。

以上

## 食品からの微生物標準試験法検討委員会第 23 回議事録概要

1. 委員長および行政より挨拶
2. 配布資料の確認・第 22 回議事抄録案の確認ののち、読み上げによる第 22 回議事録概要案の確認を行い、2箇所が訂正された。
3. 事務局より、討議は黄色ブドウ球菌試験法の最終案、通知法と標準試験法の議論を行い、カンピロバクター試験法は次回にすると討議内容の変更が伝えられた。

### “黄色ブドウ球菌試験法について（ステージ4）”

4. 事務局より、黄色ブドウ球菌コロバ案からの変更箇所について説明があった。
5. 基準となる培養温度を他の試験法と揃え、35℃から 37℃に変更。
6. “自家調製”と表記の修正をした。
7. 作業部会のステージ2の検討結果では、加熱損傷菌における検出結果では、ベアードパーカー培地(BP)培地が卵黄加マンニット食塩寒天培地(MS)培地より 2桁ほど菌数が高く分離できていた。
8. BP 培地は、損傷菌対応型の培地であるが、高価で保存性はあまり良くなく、夾雑菌の影響を受けることがある。
9. MS 培地は、安価で保存性も良く国内での使用実績もあるが、損傷菌を検出する場合や *Bacillus* 属菌などが共存すると検出が難しくなる。
10. これまでの国内での検査実績や信頼性、コロバ試験の結果などから MS 培地は BP 培地とほぼ同等と見なすことが出来、代替培地として使用可であると思われる。
11. 国際的整合性という観点から BP を標準培地とし、MS も使用できるものとする。
12. 成分規格のある食肉製品については国際的整合性の観点から BP 培地を用いることが望ましいので、成分規格の公定法として試験法を定める場合、考慮する必要があると思われる。
13. フロー図の BP 培地の★印後の文章は削除し、脚注の文章を“卵黄加マンニット食塩寒天培地を代替培地とする。”に変更する。
14. 現行の食肉製品の規格基準である 1000 cfu/g については、そのままよいのかは今後検討される必要有り。
15. 食肉製品の成分規格の公定法を BP 培地だけすると、他の食品を分析するにあっても BP 培地を用いて分析することになりかねないため、通知の際には留意願いたい。
16. 試験法の本体は完成。平板上の集落計数法については ISO に基づく NIHSJ-18 を新たに作成し、この文書を引用することとする。
17. 以上で、黄色ブドウ球菌試験法 NIHSJ-03 および NIHSJ-05 は、ステージ4を終了しコロバ実施案から標準試験法とする。

### “標準試験法と通知法の関係に関して”

18. 事務局から、資料を用いてこれまでの検討委員会の概要説明と標準法の作成は ISO

の reference method 作成とほぼ同等のやり方で行われていることが示された。

19. 検討委員会で標準試験法を策定したときにこれをどのように行政に活用していくのかの意見交換を行った。
20. 成分規格の公定法が別途通知で示された際には、これがそれ以外の食品にも標準法のように認識されがちであり、検討委員会で策定した標準試験法の位置づけを何らかの形で、行政からも支持していただきたい。
21. あくまでもこの委員会では標準試験法を策定することを目的とし、策定された標準試験法についてはどう行政側で反映させていくのかは検討を要する。
22. 標準試験法は食品の前処理については考慮されておらず、食品の前処理等の検討が必要と思われ、標準試験法をそのまま成分規格の公定法としていくというものではない。
23. 一般の試験法に関する技術的な点についてはこの検討会で助言をする。

“リステリア試験法について（ステージ2）”

24. マグロすき身、ナチュラルチーズを用いて4カ所での添加回収試験を実施する予定で、その結果は次回の検討委員会で報告する。

“その他”

25. 各作業部会の進行状況を確認した。
26. 来日した ISO/TC34/SC9（食品微生物規格機関）の議長との検討委員会委員との情報交換内容について報告があり、ISO 法策定への日本の積極的な関与が期待されていることが報告された。
27. 次回検討会は1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24回議事録概要

1. 委員長、副委員長、行政より、簡単な挨拶があった。
2. 配布資料の確認・第23回議事抄録案及び、読み上げによる第23回議事録概要案の確認を行った。

### “試験法のバリデーションについて”

3. 本委員会で策定される標準法、および標準法や標準物質を参照値とする代替法のバリデーション方法を規定する必要がある。
4. 微生物のバリデーション手法については国際的に定まっているわけではないが、準拠する規程等はいくつかあるので、これを基にこの委員会で統計処理や必要なデータ数の設定などに関してガイドラインとして目安を示す。
5. 微生物試験法では正確性を問うことが難しい部分があり、不確かな部分が多い。
6. 過去に実施した試験結果が充分あれば、それを編集することによって共同試験を省略することもできるのではないか。
7. 微生物試験では、通常、離散値(菌数)を対数変換して連続値として扱っているが、この問題は統計的にも重要な課題として現在も議論されている。
8. 統計については、専門家のアドバイスは必要で、今後専門家を育てる必要がある。
9. 試験法の同等性についてどのくらい検討するのかを示す必要がある。
10. 試験の不確かさについても考慮する必要がある。
11. アドバイサーを含めたバリデーション設計ワーキンググループを作って議論する。
12. ISO16140 には、レファレンスメソッドのバリデーションについては述べられていない。
13. 標準試験法の作成に当たってのバリデートをどうするかについては、委員会でどのようにするか決める。
14. 公定法は、行政的に迅速な対応が必要な場合もあり、当初必ずしも十分にバリデートされない場合もあり得るが、最終的には科学的な根拠があるものとする必要がある。
15. 微生物でも、農薬のように標準法と代替法とのバリデーション方法に関するガイドラインが必要である。
16. 検討する食品種数については、SIC コードから5つとか安を目安を決める必要がある。
17. 同等性という言葉が多数出てくるが、本当の意味がよくわからない。
18. 定性試験に関するバリデーションとはどういうことかわからない
19. バリデーションについては、作業部会である程度整理して、具体的な例についてガイドラインなどを提案をする。
20. 標準試験法を導入するときに行う Verification(検証)については、バリデーションとは異なるので別にガイドラインとして示すべきだ。
21. 標準試験法と同等な試験法とはどのように評価したらよいのかということを示すことが重要である。