

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）

食品微生物試験法の国際調和に関する研究

平成 30 年度分担研究報告書

遺伝子検査法に関する研究

研究分担者 泉谷秀昌（国立感染症研究所細菌第一部第二室 室長）

研究協力者 森 哲也（東京顕微鏡院）

下島優子（東京都健康安全研究センター）

研究要旨

わが国の食品衛生法では食品(種)ごとに種々の微生物に対する規格基準が規定されており、それに対応する個別の試験法が定められている。試験法は培養法をベースに構築されている。その主たる工程は増菌、選択分離培養、同定からなる。いずれの工程も菌の生化学的および/もしくは血清学的特性を利用している。近年、遺伝子検査法の発展により、また微生物の性状の多様化により、遺伝子検査法を微生物試験法に取り入れる動きがある。こうした状況をふまえ、本研究では食品における遺伝子検査法について情報収集を行い、その活用にあたってのガイドラインの検討を目的としている。本年は、PCR 法に関する一般事項について ISO 法を中心に情報収集し、ガイドライン案のベースとなる文書の選択、和訳等を行った。

A. 研究目的

わが国の食品衛生法では食品(種)ごとに種々の微生物に対する規格基準が規定されており、それに対応する個別の試験法が定められている。試験法は培養法をベースに構築されている。その主たる工程は増菌、選択分離培養、同定からなる。いずれの工程も菌の生化学的および/もしくは血清学的特性を利用している。近年、遺伝子検査法の発展により、また微生物の性状の多様化により、遺伝子検査法を微生物試験法に取り入れる動きがある。こうした状況をふまえ、本研究では食品における遺伝子検査法について情報収集を行い、その活用にあたってのガイドラインの検討を目的としている。

B. 研究方法

国際的な標準試験法として扱われている欧州 International Organization for Standardization (ISO) ホームページ上にある微生物試験法の中

で、遺伝子検査法、とくに PCR 法に関する一般事項について記載したものを検索し、その中でも重要と考えられる文書について和訳の検討を行った。

C. 研究結果および考察

ISO において PCR 法に関する記載があるものは約 30 あり、このうち、当該法の一般的な事項に関する記載があるものを表 1 にまとめた。

コンベンショナルな PCR 法の工程に関するものとしては、ISO 20837:2006、ISO 20838:2006、及び ISO 22174:2005 があった。遺伝子検査法に関する作業部会を下記のように作成し、当該作業部会においてこれらについて検討していくこととした。

遺伝子検査法に関する作業部会として、下島優香子（東京都健康安全研究センター）、森哲也（東京顕微鏡院）、岡田由美子（国立医薬品食品衛生研究所）、朝倉宏（国立医薬品食品衛生研究所）敬

称略)に加わっていただいた。

上記3文書について英文和訳を行い、内容及び文言等について精査した。

各文書の現時点での和訳タイトルは以下のとおり：

ISO22174：食品および動物飼料の微生物学
食品媒介病原体検出のためのポリメラーゼ連鎖
反応(PCR) - 一般要求事項および定義

ISO20837：食品および動物飼料の微生物学 -
食品媒介病原体検出のためのポリメラーゼ連鎖
反応法(PCR) - 定性的検出用検体調製に関する
要求事項

ISO20838：食品および動物飼料の微生物学 -
食品媒介病原体検出のためのポリメラーゼ連鎖
反応法(PCR) - 定性法のための増幅および検出
に関する要求事項。

これらはPCRの使用機器(サーマルサイクラー)に関する文書ISO/TS 20836:2005と併せて、PCR法に関する工程の概要を規定するものであった。一般的に実験室で実施されるPCR法と比較してコントロールの設定が多様であった。一般的な陰性及び陽性コントロールに加えて、プロセスコントロール、抽出コントロール、内部/外部増幅コントロールが含まれていた。これらについて情報を整理し、ガイドライン案にどのように盛り込んでいくかが今後の課題の一つであると考えられた。

これらの文書を土台として、現在、遺伝子検査法に関するガイドライン案を当該作業部会において検討しており、次年度には文言等についてバリデーション作業部会とも調整した上で、検討委員会に上申し、最終案を作成する予定である。

D. 結論

細菌の食品からの微生物試験法は培養法をベースに構築されている。一方で、多様な微生物に迅速に対応するためPCRをはじめとした遺伝子検査法は有用であると考えられる。本研究の実施により、現在、一般的に実験室で実施されているPCR法の工程と、ISOで国際的な基準として設定されるPCRを用いた試験法の工程ガイドラインの間には必ずしも一致していない部分もあると考えられた。

E. 研究発表

なし

F. 知的所有権取得状況

1 特許取得

なし

2 実用新案

なし

3 その他

なし

表 1 . 遺伝子検査法の一般事項について記載した ISO 文書

ISO 文書番号		年	タイトル
ISO	20837	2006	Microbiology of food and animal feeding stuffs – Polymerase chain reaction (PCR) for the detection of food-borne pathogens – Requirements for sample preparation for qualitative detection
ISO	20838	2006	Microbiology of food and animal feeding stuffs – Polymerase chain reaction (PCR) for the detection of food-borne pathogens – Requirements for amplification and detection for qualitative methods
ISO	22118	2011	Microbiology of food and animal feeding stuffs – Polymerase chain reaction (PCR) for the detection and quantification of food-borne pathogens – Performance characteristics
ISO	22119	2011	Microbiology of food and animal feeding stuffs – Real-time polymerase chain reaction (PCR) for the detection of food-borne pathogens – General requirements and definitions
ISO	22174	2005	Microbiology of food and animal feeding stuffs – Polymerase chain reaction (PCR) for the detection of food-borne pathogens – General requirements and definitions
ISO/TS	20836	2005	Microbiology of food and animal feeding stuffs – Polymerase chain reaction (PCR) for the detection of food-borne pathogens – Performance testing for thermal cyclers