

Microbiological Criterion (MC)

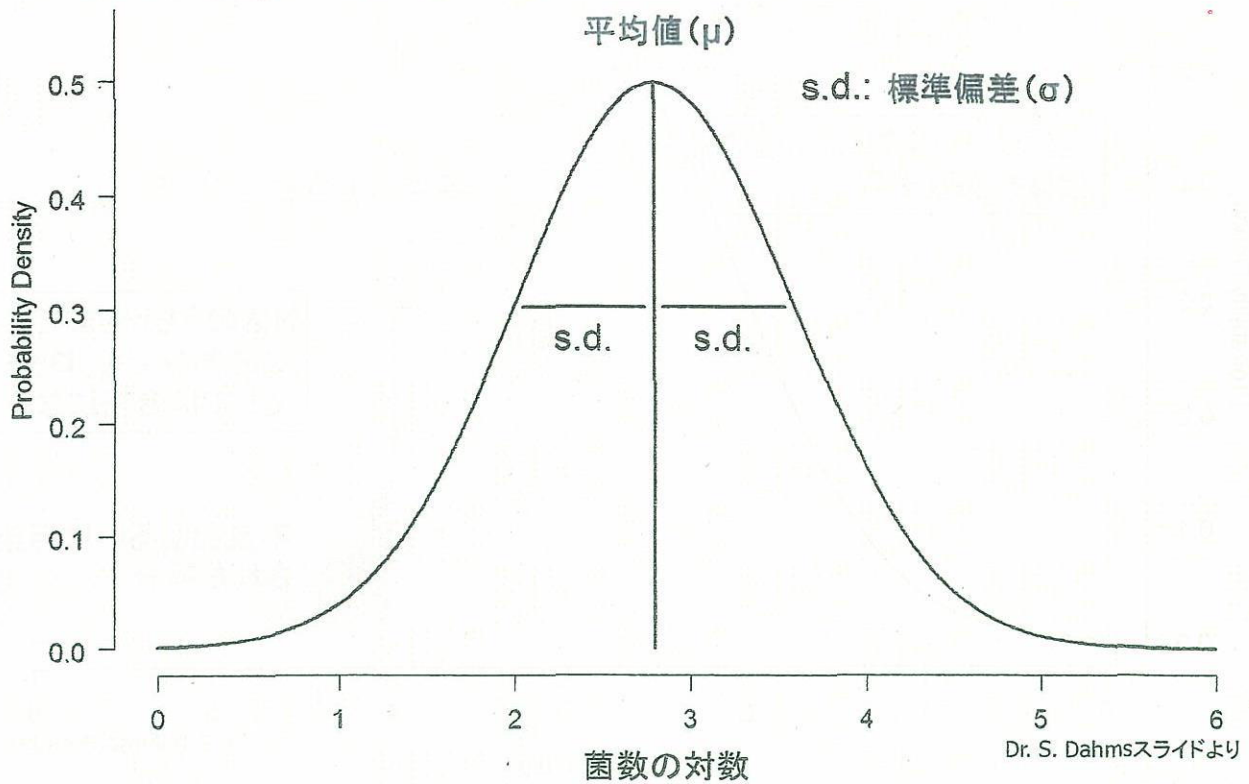
Principles for the Establishment and Application of Microbiological Criteria for Foods (CAC/GL 21-1997)

- 原則的に:食品製品あるいはあるロットの可否を規定するもの。特定の試験法とサンプリングプランの使用条件下で認められる微生物濃度と汚染頻度
- 考慮される要素:
 - 微生物(毒素)
 - サンプリングプラン(二階級法・三階級法、1ロットあたりの検体数、基準値、基準値を超してもロットを合格とする検体の数)
 - 検査単位(一検体あたりの重量あるいは容量)
 - 試験(検出)法
 - フードチェーンにおいて適用される箇所

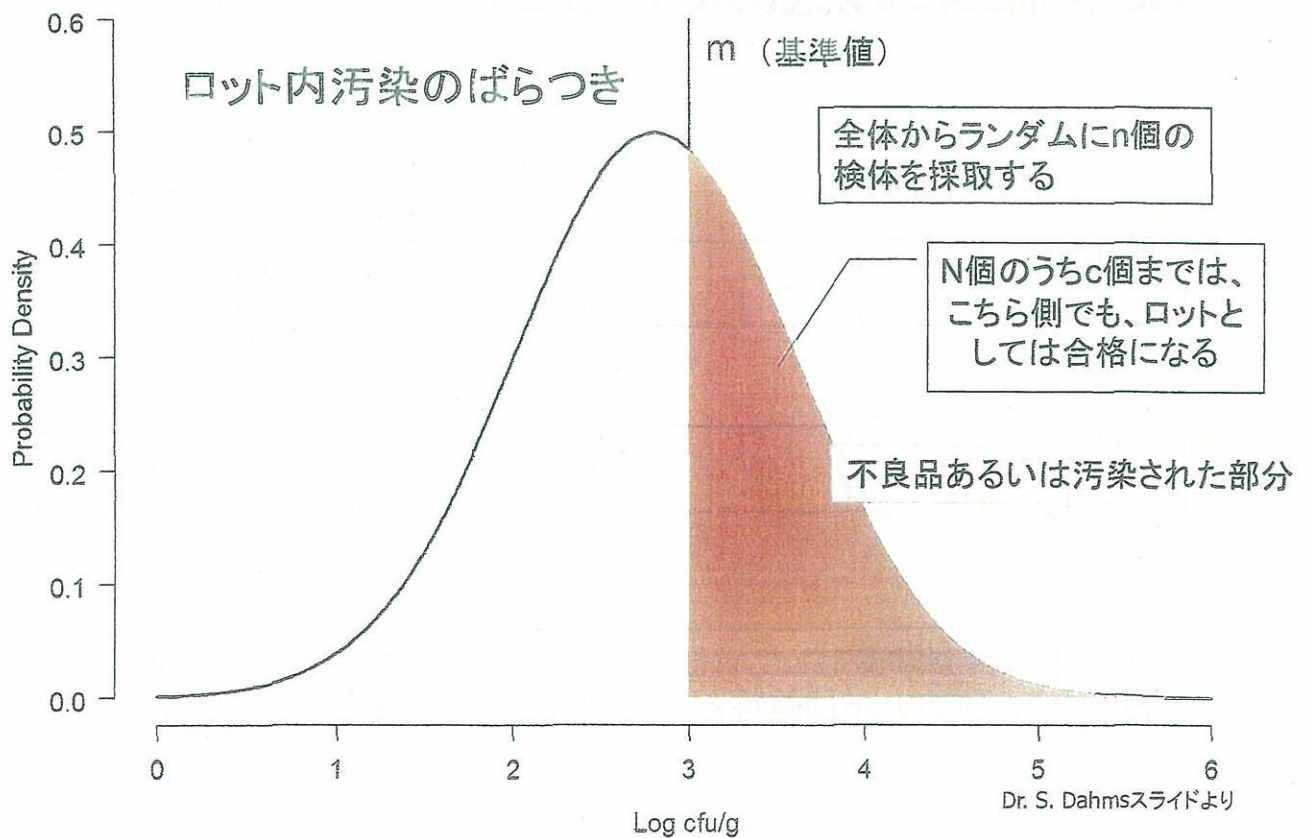
サンプリングプラン

- 二階級法 (Class 2) サンプリングプラン
 - n: 1ロットからランダムに取り出される検体の個数
 - m: 基準値
 - c: ロットを合格と判定する基準となる不良検体の個数 (nのうち、mを超えてもよい検体数)
- 三階級法 (Class 3) サンプリングプラン
 - n, c, mに加え
 - M: 条件つき合格と判定する基準となる菌数限界、それ以上の菌数は不許可

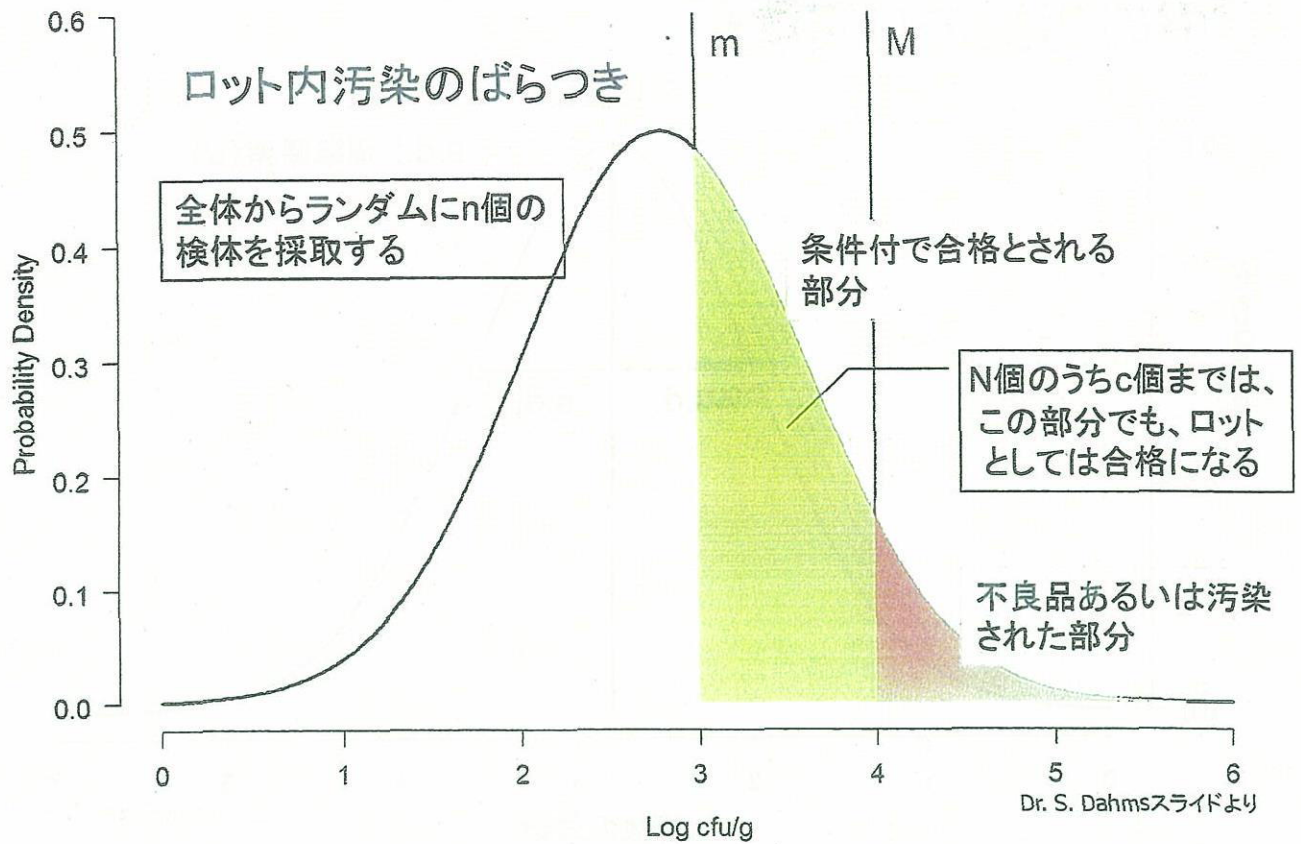
微生物検査にあたっての前提:ロットの中での汚染のばらつき



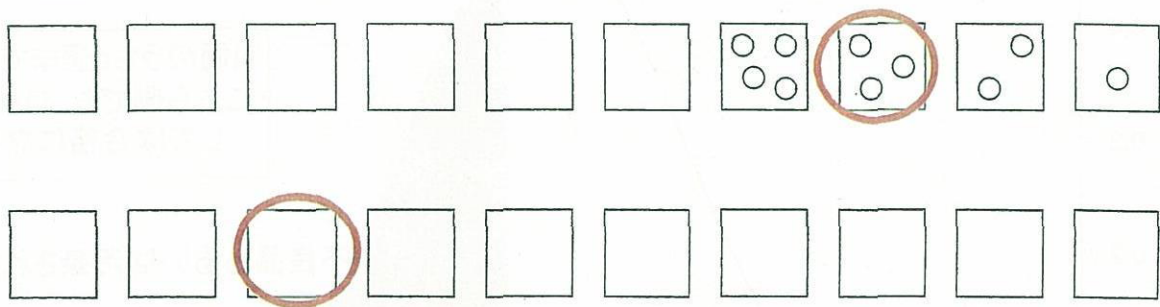
二階級法サンプリングプラン



三階級法サンプリングプラン



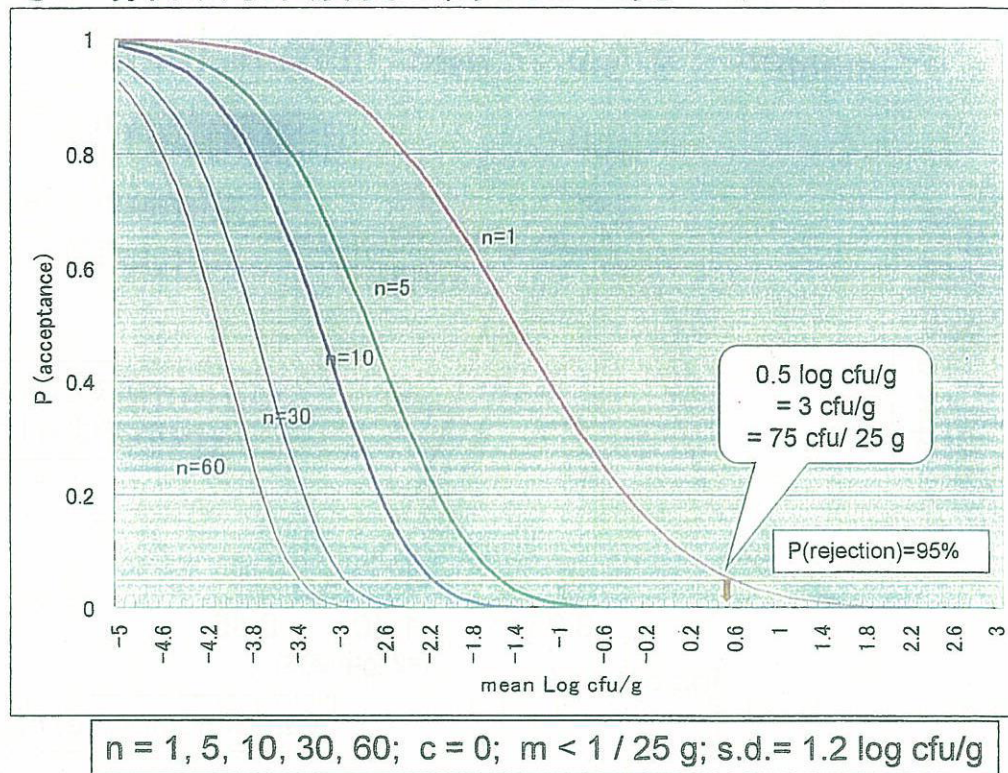
検査結果の意味すること



微生物の汚染は偏在しているため、汚染のない部分から検体が採取されると、そのロットは陰性として、汚染が見逃されることになる

「25 g あたり陰性」が実際に示すこと

- ・ほぼ確実に不合格(95%不合格率)となるロットの汚染の平均値
= このレベルまで汚染していないと確実に排除されない
- ・nが小さい場合、汚染濃度が高くないと見つけにくい

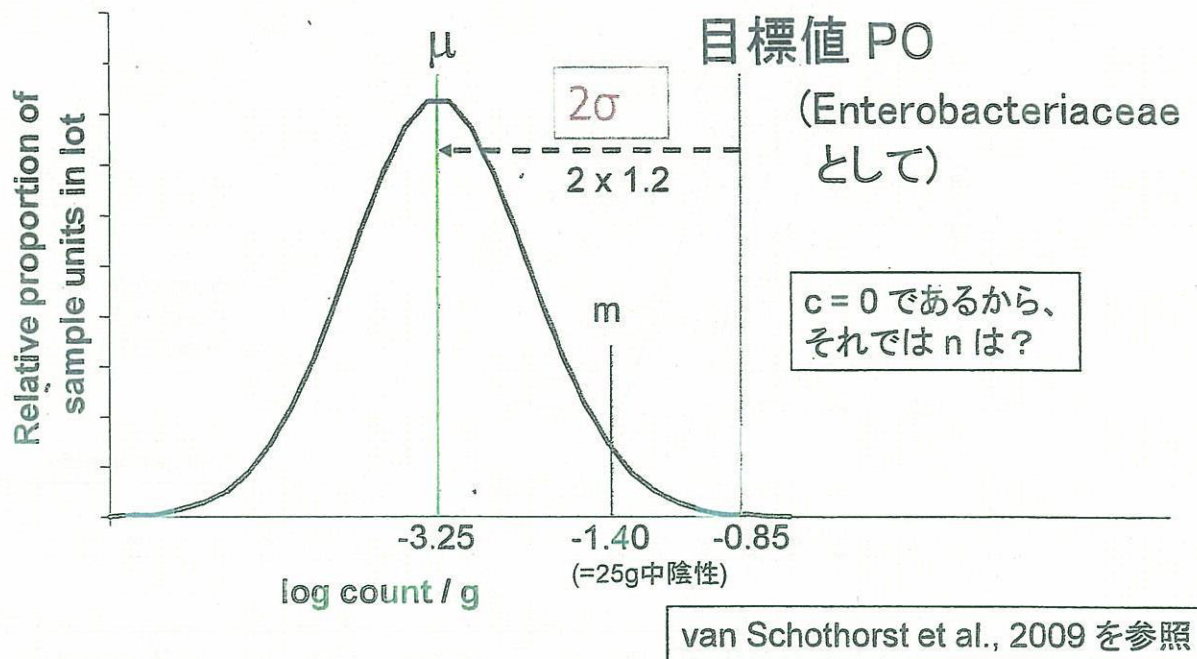


MCの設計

- Enterobacteriaceae : 腸管出血性大腸菌を
100:1 と仮定
⇒ POは、Enterobacteriaceae として
 $0.0014 \text{ cfu/g} \times 100$
 $= 0.14 \text{ cfu/g} = -0.85 \log \text{ cfu/g}$
- MCはPOが満たされているかを確認するための微生物検査の規格
- MCにより、最も汚染されているロットでも、その
97.7%(標準偏差の2倍値)が、
Enterobacteriaceae として $-0.85 \log \text{ cfu/g}$ を超えないようにする
- ロット内汚染の標準偏差を $1.2 \log \text{ cfu}$ と仮定
- すなわち、最も汚染されているロットの汚染平均値(μ)は、 $-0.85 - 2 \times 1.2 = -3.25 \log \text{ cfu/g}$

微生物規格の基準値と達成すべき目標値との関係

$$P_{\text{accept}} = 5 \% \text{ (or } P_{\text{reject}} = 95 \% \text{) } [n, c, m, M]$$



MCの設計(続)

- ロット内汚染の標準偏差を 1.2 log cfu と仮定し、汚染の平均値 -3.25 log cfu/g であるロットを95%の確率で不合格とさせるサンプリングプラン

n	95%の確率で不合格となるロットの平均汚染濃度 (log cfu/g)
1	0.50
5	-1.79
10	-2.49
20	-3.08
25	-3.25
30	-3.39
60	-3.87

Enterobacteriaceae として
 $n = 25, c = 0,$
 $m < 1 \text{ cfu} / 25 \text{ g},$
 $M = \text{NA}$

朝倉参考人より説明

- Enterobacteriaceae を検査の指標菌として
選択した理由
- PO、すなわち
 - MCで担保されるレベル
 - 初期汚染濃度から4対数個低い濃度
を満たすことが期待される加工基準の具体案

試験法についての概略

病原体を対象とした試験法

サルモネラ属菌 NIHSJ-01
 ISO 6579

腸管出血性大腸菌 通知法 O157, O111, O26, O104

- ・腸管出血性大腸菌では、血清型毎培地が異なる試験法が示されているが、上記以外の血清型を検査する方法は示されていない
- ・病原体を対象とした試験では、通常まれにしか存在しない病原体自身を高い精度で検出する必要があり、衛生指標菌の試験法の検査に比べ検体数を十分に大きくしなければならない
- ・病原体を対象とした評価のためには、それぞれの対象菌について試験を行わなければならない

衛生指標菌試験法の概要

		増菌培地	培養温度	選択培地		検出可否	
						サルモネラ属菌	腸管出血性大腸菌
Enterobacteriaceae	ISO 21528-1 日本語版NIHSJ-15	BPW→EE培地	37°C (30°C)	VRBG培地	37°C (30°C)	○	○
coliforms (MPN)	ISO 4831 日本語版NIHSJ-12	ラウリル硫酸トリ プトースブロス	30°C or 37°C			×	○
coliforms (集落計数)	ISO 4832 日本語版NIHSJ-12			VRBL培地	30°C or 37°C	×	○
大腸菌群(MPN)	告示・通知法	BGLB, BTB-LB, ECの3つの異 なった方法	32- 35°C	確定試験、完全試験が 必要		×	○
大腸菌群 (集落計数)	告示・通知法			デソキシコレート培地	32-35°C	×	○
糞便系大腸菌群	告示・通知法	EC培地	44.5°C	EMB培地	35°C	×	○*
推定大腸菌	ISO 7251 日本語版NIHSJ-10	ラウリル硫酸培 地	37°C→ 44°C	EC培地	44°C	×	○*
大腸菌	検査指針	糞便系大腸菌 のうちIMViC試 験のパターンで 決定	44.5°C			×	○*

黄色の色付け: 分類学的な集団を想定; 着色無し: 特定の培地や条件下で得られる菌の集団
VRBL: クリスタルバイオレットニュートラルレッド胆汁乳糖寒天培地
○*: 一部の病原菌は増殖しないものがある

それぞれの衛生指標菌試験法を採用した場合の長所・短所

		長所	短所	検出可否	
				サルモネラ属菌	腸管出血性大腸菌
Enterobacteriaceae	分類学的な根拠があり、コーデックスでも微生物基準として既に採用されている		国内では、あまり用いられていない	○	○
coliforms	海外で汚染指標として用いられている		国内の大腸菌群とは培地の相違により同一でない	×	○
大腸菌群	国内の汚染指標として広く用いられている		海外のcoliformsとは、同一でない	×	○
糞便系大腸菌群	国内の基準として実績がある		海外の試験法にはない	×	○*
推定大腸菌	海外では、汚染指標として用いられている		国内では、あまり用いられていない	×	○*
大腸菌	分類学的な根拠があり、遺伝子学的な試験法への移行が可能である		IMViC試験まで行うのは煩雑である	×	○*

○*: 一部の病原菌は増殖しないものがある

衛生指標としてEnterobacteriaceaeを採用した背景

ISO試験法として、国際的に実績のある試験法である

コーデックスの乳児用調製粉乳の微生物基準に既に採用されている

植物常在菌も含まれるが、食肉ではこのような菌はあまり問題となっておらず、糞便汚染として利用可能である

糞便汚染指標に加え、対象となる病原体の検出も可能である

(他の衛生指標では、サルモネラ属菌は検出できない)

将来的には遺伝学的試験法にも対応可能である

留意点

国内での試験実績は少ないので、試験法普及のための研修会等が必要である