

サンプリングプラン勉強会 第13章 工程管理

— 後半 —

2008年4月17日(木)

国立医薬品食品衛生研究所

春日 文子

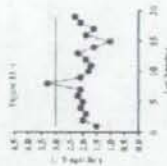
第13章後半目次

- 13.5 製造中の管理：管理を維持し改善するために
データの編成
 - 13.5.1 定量データに対する変数管理図
 - 13.5.2 変数管理図作成の一般原則
 - 13.5.3 データが自動相関する際の修正
 - 13.5.4 微生物濃度の個々の数値を図表化した際に考慮すべき事項
 - 13.5.5 微生物数の変数管理図の限界値選定
 - 13.5.6 ある種の变数管理図を解釈する際の注意
 - 13.5.7 微生物の有無に対する定性管理図
 - 13.5.8 データのサブセットによる複合的な管理図の利点
 - 13.5.9 管理図作成ソフトウェアに関する注意
- 13.6 規制の手段としての工程管理検査の利用
- 13.7 過去に認識されなかった要因や不測の事態に対する
検討およびそこから得られる教訓

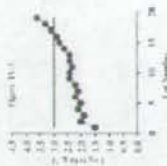
13.5 製造中の管理：管理を維持し改善するため に行なう複数の食品ロットからのデータの編成

- 微生物学的検査プログラムの意義が実質的に変化
 - 個々のロットに対する検査⇒食品管理システムの有効性の検証
 - 微生物学的試験法は実質的には同一、しかしデータ解釈のための統計解析法は別
 - バッチ内とバッチ間の変動を考慮
- HACCPシステムなどにおける定期的検査の目的
 - 安全な製品が生産される状態が維持されているという保証
 - 管理不能に陥る前に修正のための行動を取ることができるように、作業の傾向を分析するための基盤
 - 管理不能の原因(汚染の周期性など)の昇極め
 - 本来のHACCPプランを再検討する必要があるほど状況が変化していることの警告
- 管理図：複数のロットにわたる結果を視覚的に追跡
 - 累積和(CUSUM)管理図 Cumulative sum charts
 - 移動和(MOSUM)管理図 Moving sum charts

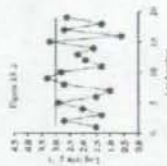
良好に管理
された状態



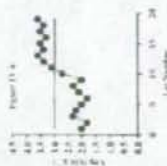
工程の要素
が時間と共に
その効果を失
いつつある



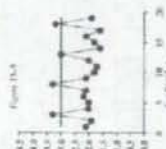
変動性の大きい
状態、管理不備
の要因有?



機器の重要な
部分が突然故障
した場合には
管理不能



間歇的に再発
する問題の存在



13.5.1 定量データに対する変数管理図

評価される微生物学的データ

- 定性データ(定量的でないデータ、微生物の有無の試験)
- 変数データ(定量的データ、微生物濃度の判定)

13.5.2 変数管理図作成の一般原則

XR管理図

平均値

上方管理限界(UCL)



中心線

下方管理限界(LCL)

範囲



LCLが検出限界より下にある場合(すなわち微生物が存在しない時)、LCLはゼロ、あるいは検出限界より下に予め設定した値を仮定

Response Number

13.5.2 変数管理図作成の一般原則(続)

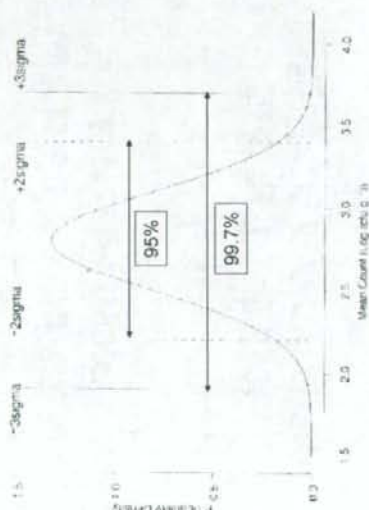


Figure 13-7. Results of a normal distribution.

13.5.2 変数管理図作成の一般原則(続)

Table 13-1 Hypothetical Results of a Process Capability Study for a Ready-to-Eat Food Wherein Total Aerobic Plate Count Data (\log_{10} cfu/g) Are Used To Verify the Acceptability of a Product

Subgroup	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4	Sample 5	Sample 6	Sample 7	Sample 8	Sample 9	Sample 10	Sample 11	Sample 12	Sample 13	Sample 14	Sample 15	Sample 16	Sample 17	Sample 18	Sample 19	Sample 20	Range	
1	3.1	3.0	2.8	3.1	2.00	3.2															2.00	
2	2.7	2.9	2.8	2.8	2.85	3.3																0.3
3	2.8	3.3	2.8	2.9	2.85	2.5																0.5
4	2.9	2.5	2.6	2.7	2.68	3.4																0.4
5	2.6	2.7	2.6	2.6	2.65	3.1																0.1
6	3.1	3.0	3.0	3.1	3.05	3.1																0.1
7	3.2	2.9	2.8	2.7	3.00	3.1																0.4
8	3.8	2.8	2.7	3.5	3.20	1.1																0.4
9	3.5	3.0	2.5	2.8	2.95	1.0																0.5
10	2.5	2.5	2.6	2.6	2.58	3.1																0.1
11	2.8	2.8	2.8	2.8	2.80	3.0																0.0
12	2.9	2.9	2.7	2.8	2.83	3.1																0.1
13	3.0	3.3	3.4	3.4	3.28	3.4																0.4
14	2.9	2.5	2.7	2.6	2.68	3.4																0.4
15	2.5	2.6	2.7	2.7	2.63	3.2																0.2
16	3.1	2.8	3.1	3.1	3.03	3.1																0.1
17	2.5	2.6	2.6	2.6	2.60	3.0																0.0
18	2.8	3.4	3.7	2.9	3.20	3.9																0.9
19	2.9	3.0	3.1	3.0	3.00	3.2																0.3
20	2.4	2.3	2.7	2.4	2.45	3.4																0.4
																						0.35

13.5.2 変数管理図作成の一般原則(続)

— 管理限界の設定 —

- \bar{X} の管理限界: $3\text{-}\sigma$ の算出

$$LCL = \bar{X} - (A_2 \cdot \bar{R}), UCL = \bar{X} + (A_2 \cdot \bar{R})$$

- \bar{R} の管理限界

$$LCL = D_3 \cdot \bar{R}, UCL = D_4 \cdot \bar{R}$$

Table 13-2 Parameters for Determining "3- σ " Control Limits for \bar{X} and R Charts

Sample Size (n) per Subgroup	A ₂	D ₃	D ₄	D ₂
2	1.880	0	0	3.268
3	1.023	0	0	2.574
4	0.728	0	0	2.282
5	0.577	0	0	2.114
6	0.483	0	0	2.004
7	0.419	0	0.076	1.924
8	0.372	0	0.136	1.864
9	0.337	0	0.184	1.816
10	0.308	0	0.223	1.777

13.5.3 データが自動相関する際の修正

- 管理図を作成する際の基礎となる前提

— 個々のデータポイントがプロットされるにつれて、正規分布(log10の値)あるいは対数正規分布に従って経時的にランダムに分散

- 実際の製造現場

— 経時的に継続して収集された製品のパラメータの連続した測定値は、しばしば互いに相関し合う(すなわち測定値が自動相関する)

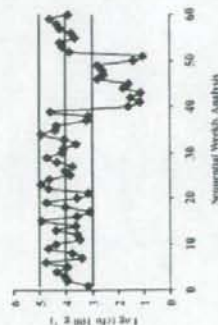
— 自動相関は、複数の値が互いに近い時間帯に収集された時に特に生じやすい

— 自動相関は、管理限界の設定に関連して、管理図のデータのパターンに影響を及ぼす

13.5.4 微生物濃度の個々の数値を図表化した

際に考慮すべき事項

- 40週以降に同じ程度の変動、しかし低いレベル
 - 機器における変化、季節性の影響、分析法の変更などが原因か?
- 異常な低値あるいは低い値のパターンは、工程の改善の余地あるいは分析プロトコルの見直しの必要を示唆



最終製品のサンプルにおける指標微生物濃度の例

13.5.5 微生物数の変数管理図の限界値選定

• 変数管理図の上方限界と下方限界の設定に当たっては、食品科学者、食品微生物学者、工程の管理者等の専門的判断が最も重要

• 限界値の初期値を選定する一助となる統計的工程管理 (statistical process control: SPC)法

➢ 90%以上が定量可能(10%未満が検出限界以下)

✓ 検出限界以下: 検出限界の半分の値に代入し、log10換算

✓ $\bar{X} \pm 2\sigma$ で「警告限界」、 $\bar{X} \pm 3\sigma$ で「中止限界」

➢ 10~50%が検出限界以下

✓ 50%値~75%値(Log)= $\sigma \times 67\%$ ⇒ σ を推定

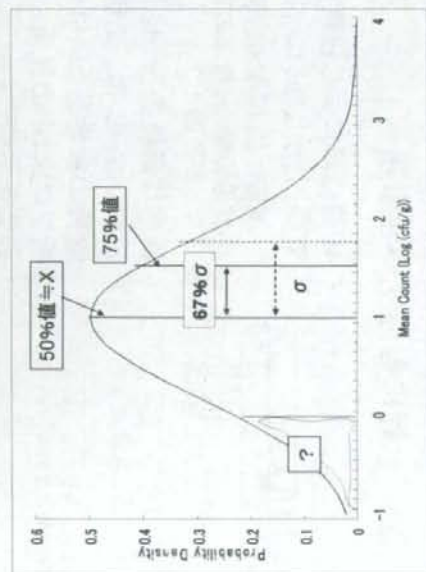
✓ 50%値= \bar{X}

➢ 50%以上が検出限界以下

✓ 一応、70%値~90%値(Log)= $\sigma \times 76\%$

✓ しかし、変数管理図を使うこと自体、再考した方がよい

13.5.5 微生物数の変数管理図の限界値選定(続)



13.5.5 微生物数の変数管理図の限界値選定(続)

- 限界値の初期値の設定⇒その後得られた最初の試験結果を慎重に調べ、初期値の設定に用いられたデータが、工程が良好に管理されていることを示すものであることを確認
- 次の場合、工程あるいは原料の変更、サンプリング法あるいは分析法の変更を検討
 - ✓ $\bar{X}-3\sigma$ 未満あるいは $\bar{X}+3\sigma$ 以上の結果が出た場合
 - ✓ 5つの連続した結果のうち3つが区- 2σ 未満あるいは $\bar{X}+2\sigma$ 以上である場合
- 選定した限界値に過度の誤警報が生じた場合、限界値を第Ⅱ種の過誤(安全性の欠陥を感知していないこと)の可能性と比較し、適切な場合は範囲を広げる
- 工程が以下の点について適切に判定されるまでは、調査と変更を繰り返す
 - ✓ 工程が管理されている場合の逸脱の頻度
 - ✓ 管理不良の頻度

13.5.6 ある種の変数管理図を解釈する際の注意

- 移動範囲(R)図は、pHや温度などの指標をモニタリングする工程管理に有用
- 個々の結果とその前の結果の差の絶対値を追跡、減少と増加は同じく扱われる
 - ⇨ 有害微生物の濃度については、微生物濃度の有意な減少と有意な増加を同じには扱えない
- 移動範囲の平均値を σ の推定値に換算する標準的な方法は、病原体と指標細菌に関しては推奨できない
 一複数の要因が自動相関し、食品の微生物レベルの真の変動を過小評価させるため

13.5.7 微生物の有無に対する定性管理図

- 微生物の有無を調べる試験
- 試験の結果は、試験方法、特に検出限界値に大きく左右される
- 結果が出るまでの時間が問題
- 左の事例

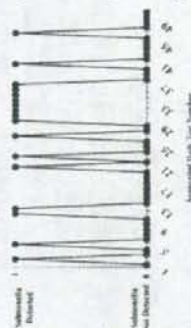


Figure 13.8. Microbiological control chart. The chart shows that the substrate numbers 1 through 10 are the most likely to give a high test result. The substrate numbers 11 through 20 are unlikely to give a high test result.

1日1回実施される、サルモネラ
 定性試験の架空例
 管理下: 4回に1回の頻度で陽性
 管理基準: 4日間連続で陽性
 結果判定に要する時間: 2.5日

- 29-33日目の4日間陽性、しかしその連続性を探知し対処するのは37日目
- いつ不具合が起きたのかわからないが、対処した時には既に陰性

13.5.7 微生物の有無に対する定性管理図(続)

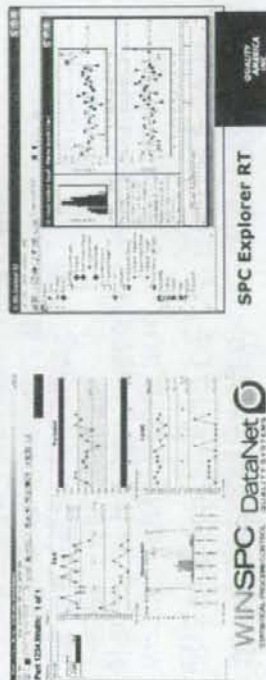
- 定性管理図に関する応答時間に影響する要因
 - 試験の頻度
 - 既定された管理基準
 - サンプルの試験に要する時間
- 工程あるいはシステムが管理された状態で作動している場合、ある割合 p で「陽性」
- 連続的な試験結果は各々独立
- 「陰性」結果が予想外に長く続く場合、試験が独立でない可能性も考慮

13.5.8 データのサブセットによる複合的な管理図の利点

- 最終製品の検証サンプリング: 工程管理のすべての段階の統合を反映し、生産全体に影響を及ぼす問題による不良を明らかにするため、効果的な管理図作成のために必要不可欠
- 工程の中間点における重要な段階での検証サンプリング: 原因を突き止めるための貴重な情報を得たり、発生した問題をより早期に特定したりすることができる

13.5.9 管理図作成ソフトウェアに関する注意

- 種々の管理図ソフトウェアが入手可能
- オプションを利用する際には注意が必要
 - ☆ 食品と工業製品とは異なる
- ソフトウェアによってのみ管理の記録を維持する場合も、注意: データのインプット時に \bar{X} と σ を自動的に再調整し、調整の痕跡を残さないソフトも



13.6 規制の手段としての工程管理検査の利用

- 個々のバッチの検査から、工程管理手法の妥当性確認、モニタリング、検証へ
- 例: 米国農務省 (USDA) 食品安全検査局 (FSIS) の病原性低減/HACCP規制
 - 生産者による *E. coli* の検査
 - $n=13, c=3, m$ and M based on national baseline surveys, commodity-specific rate of sampling
 - FSISによる *Salmonella* spp. の検査
- 定性検査、national baseline surveysに基づき肉の種類ごとに基準

Table 13-3 *Salmonella* Performance Standards Associated with the USDA Pathogen Reduction HACCP Regulation

Class of Products	Performance Standard (% positive for <i>Salmonella</i>)	Number of Samples to be Tested (n)	Maximum Number of Positives to Achieve Standard (c)
Steer/Heifers	1.0	82	1
Cows/Bulls	2.1	58	2
Ground Beef	2.5	51	5
Beef	20.0	51	12
Pigs	8.7	55	6
Ground Turkey	43.8	51	29
Ground Chicken	44.6	51	26

13.7 過去に認識されなかつた要因や不測の事態に対する検討およびそこから得られる教訓

- HACCPの検証は、HACCPプログラムの基礎となった危害分析において特定された状態と必要条件が存続しているかを確認する目的も
- 液卵製品の低温殺菌についての考察
 - 液卵製造のCCPIは加熱時間と温度の条件
 - それらパラメーターは *Salmonella* 接種試験から
 - 試験当時、液卵使用される卵は殻つき卵市場の売れ残り
 - 卵白のpHは7~8の間であるが、数日の間に10~11に上昇
⇒ *Salmonella* の耐熱性が低下
 - ところが最近、液卵用の卵は農場から直接入荷
 - pHは7~8のまま⇒ *Salmonella* の耐熱性はデータ作出時より高くなっている
 - CCPをモニタリングしても、卵の重要な特性におけるこのゆるやかな変化は検知されない

ICMSF 第14章

ピーナッツに含まれる

アフラトキシン

国立医薬品食品衛生研究所
衛生微生物部

小西良子

サンプリングシート 2008.5.29

14.1 序論 (2)

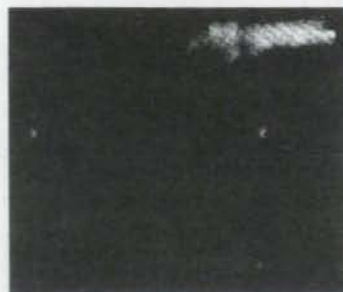
- ✓ 諸外国で基準値が設定されている(1-25 μgkg^{-1})
- ✓ コーデックス委員会では食品中の総アフラトキシン量のマキシマムレベルを $15 \mu\text{gkg}^{-1}$ とした(対象は加工用ピーナッツ)

サンプリングシート 2008.5.29

- ✓ *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*の2次代謝物質物 (ピーナッツ汚染には*A. parasiticus*が関係している)
- ✓ *Aspergillus flavus*は天然分離株の40%がアフラトキシン産生(主にB1, B2)
- ✓ *A. parasiticus*はすべての天然分離株がアフラトキシン産生(B1, B2, G1, G2)
- ✓ 強い発ガン性をもつ
- ✓ 自然汚染はアフラトキシンB1, B2, G1, G2

サンプリングシート 2008.5.29

毒薬の四角いプレートにアフラトキシンを塗布し、発色を確認する(B1, B2は黄色、G1, G2は赤)



AFB1



AFB2



AFG1



AFG2



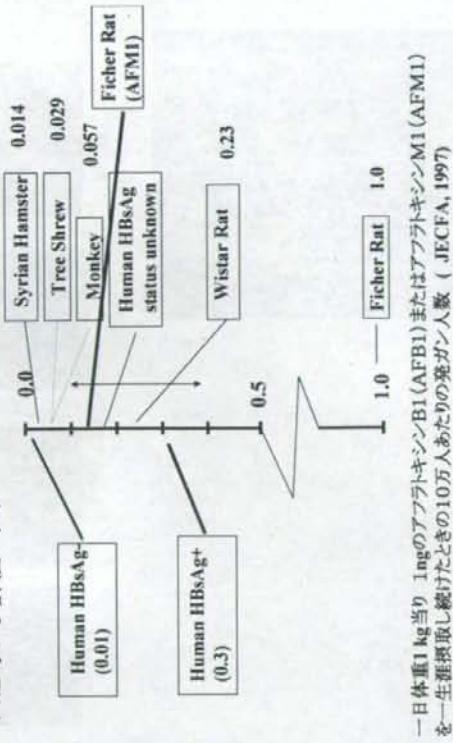
サンプリングシート 2008.5.29

14.2 リスク評価 (1)

- ✓アフラトキシンはほとんどの動物種に肝臓ガンに誘発させる。
- ✓HBV感染とアフラトキシン誘発肝臓ガンの発症率は相関関係が疫学的に認められる。
- ✓しかし明確なアフラトキシン暴露によるリスクを評価、予測することは難しい。
- ✓JECFAは毒性データと疫学データに基づくリスク評価をHBV感染者と非感染者に適用できる2つの基本的なグループに分けた。

サンプリングセミナー 2008.5.29

14.2 リスク評価 (2)



食品の安心科学フォーラム

5/23/2008

14.2 リスク評価 (3)

- この数値を基にリスク評価をすると、
- 1) 摂取する食品に20 μgkg^{-1} 以上のアフラトキシンが含まれていない食事形態(ヨーロッパアンタイプ)の場合、アフラトキシン一日平均摂取量は19 ngであり、体重60kgと仮定した場合、その集団の平均ガンリスクは年間10万人当たり0.004人がガンを発症する。
 - 2) インドネシアではヨーロッパのリスクより1000倍高いと推定。年間2万人がアフラトキシンによる肝臓ガンで死亡する。

✓14.3 リスク管理

- ✓輸入国 5 μgkg^{-1} から1 μgkg^{-1} に引き下げられた。
- ✓生産国 輸入国の規制値はクリアできない
- アメリカ: 25 μgkg^{-1}
- オーストラリア: 15 μgkg^{-1}

14.3.2 摂食時安全目標値 (FSO)

+ 国によって設定される食品中のアフラトキシン
の規制値 = FSO

+ コーデックス委員会
ピーナッツの総アフラトキシンの最大許容量
 $15 \mu\text{gkg}^{-1} = \text{FSO}$

サンプリングエラー 2008.5.29

防除対策

間伐ストレスのときに汚染しやすい
加工においてもなくならない



GAP (農業規範) GHP (衛生規範) - 色彩選別

HACCP (定量分析)

サンプリングエラー 2008.5.29

14.3.1 許容リスク水準 (TLR)

HVBとの相互作用、相乗作用があることから
TLRを作成することは困難である。

2つの仮説

- 1) 年間100万人当たり1例のガンを誘発する総食事に
含まれるアフラトキシン量である
- 2) TLRは1000倍以上低いレベル

サンプリングエラー 2008.5.29

+ 干ばつストレス下ー堅果を土から掘り出す前
にアフラトキシンが産生することが多い

+ アフラトキシンは耐熱性ー真菌・細菌汚染を
低減するために用いられる方法は期待できな
い

サンプリングエラー 2008.5.29

農場規範

雑草抑制やその他適切な措置によって土壤水分を維持すること

干ばつストレスの時間および大きさを軽減すること
できる限り迅速に野外もしくは機械で安全な水分量まで
乾燥させること

一定の湿度に保ち適切に設計された瓶にいれて日陰で、
湿度モニタリングしながら適正な湿度管理下で貯蔵すること

穀挽き機に送る前に洗浄し、高量のアフラトキシンを
含有している可能性の高い果を除去

先進国では 穀を剥いたピーナッツに対して適正貯蔵基準をつくっている

サンプルリング番号 2008.5.29

サンプルリング番号 2008.5.29

最終製品の受け入れ基準

官能基準 大きさと色

化学敵物理的基準 アフラトキシンの濃度 (15 μ g/kg)

微生物的基準 *A. flavus*, *parasiticus*

貯蔵施設に関するGHP構想

- 採取時のランダムサンプルングを行い水分量およびアフラトキシン含有量を評価する。
- 害虫・温度勾配・水分の管理について農場での貯蔵に注意を払う
- 脱穀後の色彩選別では、なるべく1色以上の識別が可能で、原料のアフラトキシンの状態に応じて、大量の堅果も少量のものも分離できるように設定できるような機械を使用する。

モニタリング : GHP/HACCPのプロセスが妥当かどうかを確かめる

第15章 粉ミルク中のサルモネラ

29 May 2008
ICMSF勉強会
キューピー機研究所 指原信廣

第15章の構成

- ・ 15.1 序論
- ・ 15.2 リスク評価
- ・ 15.3 リスクマネージメント
- ・ 15.4 製品と工程の基準
- ・ 15.5 GHPとHACCP
- ・ 15.6 最終製品の受け入れ基準
- ・ 15.7 文献

15.1 序論

- ・ 牛乳は低年齢の子供にとっては重要な食物であるが、傷みややすい。
- ・ 保存、貯蔵のための工夫が必要であった。そのうち乾燥は最も利用される技術の一つである。乾燥の利点は重量の減少と輸送が容易であること。
- ・ 粉ミルクを調乳した際にサルモネラ属菌の増殖が病気を引き起こすことが示唆される。
- ・ 粉ミルクのサルモネラのリスク評価を取り上げることは、摂食時安全目標値 (FSO) の設定例を提供するのがこの章の目的である。

15.2 リスク評価

15.2.1 ハザード関連情報

- ・ サルモネラ属菌は $AW > 0.95$ 、 $pH > 4.9$ 、温度 $8 \sim 45^{\circ}\text{C}$ の牛乳中で増殖可能なグラム陰性桿菌である。
- ・ サルモネラ属菌は世界中のほとんどの地域に広がり、動物は多様な血清型により感染する可能性がある。
- ・ 動物に感染すると、排泄され直接乳の汚染や環境汚染を引き起こす。水や塵埃から工場の汚染へとつながる。

15.2 リスク評価

15.2.2 暴露評価

- ・サルモネラ属菌は72°Cで15秒間で菌数を最低 10^{-10} log 減少させることができる。
- ・脂肪分解酵素の失活のために80~85°Cで最低5秒間行われ、殺菌効果がある。
- ・殺菌後の再汚染の危険性があるため、粉ミルクの取り扱いは重要である。
- ・粉ミルクのサルモネラ汚染の頻度や実際の濃度に関する正確な評価を打ち出すのは難しい。
- ・調乳したミルクで潜在的な増殖の可能性は知られていないが、商業的な経験や疫学的な証明によると摂取時の濃度は低いと想定することは妥当であろう。

15.2 リスク評価

15.2.3 ハザードによる健康被害解析 (つづき)

- ・食品の種類が症状と菌量関係にも影響する。
(脂肪含量が多いチヨコレート、チーズなどでは $<10\text{cfu/g}$ で発症)
- ・調乳した粉ミルクを摂取する対象者は幼児であるので、最悪のシナリオを想定してアブローチする。
→粉ミルク1サービングあたり 1 サルモネラで小児が胃腸炎にかかると想定する。

15.2 リスク評価

15.2.3 ハザードによる健康被害解析

- ・本項はリスク評価において、対象の個人またはグループに対する特定のハザードの影響を示す。
- ・サルモネラは経口的に摂取して症状を示す。
- ・潜伏期間は5時間~5日とばらつきがある。
- ・幼小児や高齢者や免疫不全者には $<100\text{cfu/g}$ の少量でも重篤になる。
- ・リスクを評価する場合には疾病の種類と対象集団を特定することが大切である。

15.2 リスク評価

15.2.4 リスク特性解析

- ・世界の粉ミルク生産量は100万トン (10^{12}g) を超えると推定される。 1 サービングを 10g と仮定すると、年間 10^{11} サービング消費する。汚染された粉ミルクでサルモネラ症の発生件数を年間1000例未満とすると 10^8 サービングあたり1例未満であると推定される。これは実際のリスクよりも過大評価している可能性はある。

15.3 リスクマネージメント

15.3.1 消費者保護のための受け入れ基準

- ・先進国のサルモネラ症の有病率は年間平均50例／人口10万人である。
- ・公衆衛生上の目標を粉ミルクの摂取に伴う年間発生数が1例未満／人口10万人と提示することができる。(粉ミルク製品によって現在の疾病負担が極端に増加するわけではない)

15.3 リスクマネージメント

15.3.2 摂食時安全目標値の設定(つづき)

- ・1サービング中1個のサルモネラにより発症するという最悪のシナリオを採用すると・・・
→FS0は粉ミルク中で1cfu未満／100kgでなければならぬ。
- ・このFS0は年間1例未満／人口10万人に相当する。(粉ミルクを調乳した直後に摂食したとしている)
- ・調乳した後の粉ミルクでサルモネラの増殖は保存・貯蔵の温度・時間に左右される。
- ・ここでは調乳した後の粉ミルクの安全性についてはサルモネラ以外には考慮していない。

15.3 リスクマネージメント

15.3.2 摂食時安全目標値の設定

- ・1年間に消費されるサービング数を1000万サービング／10万人となる(仮定)；世界人口の1／3が年間平均一日1杯の牛乳を消費する。1杯の牛乳=粉ミルク10g)
- ・10⁸サービングに1例未満の感染確率と予想すると、粉ミルクの摂食による感染は年間1例未満／人口10万人となる。

15.3 リスクマネージメント

15.3.3 防除対策

- ・FS0達成のための防除対策。
- ・1.農場でのサルモネラ排除→搾乳、その後の処理での汚染回避。しかし難しい。
- ・2.工場環境全体からサルモネラの排除→これも達成が困難。
→サルモネラ排除に向けた努力は低温殺菌後の設備や環境に向けられるべきであろう。
- ・原料における初菌数の制御
- ・生乳の低温殺菌による菌数低減
- ・再汚染回避による菌数増加防止→GHPの導入
- ・消費者に対する情報提供→注意・指示の表示

15.3 リスクマネージメント 15.3.3 防除対策 (つづき)

- FS0達成のための防除対策。
- 最も厳しいサンプリングプランを推奨
→ (25g 単位で $n=60$ の2階級サンプリングプラン) をもってしても、対数正規分布、標準偏差 $=0.8$ と仮定する。サルモネラの平均濃度が 1cfu 以上/ 526g 存在しないと、信頼限界95%で、陽性ロットが検出されないはずである。
⇒最終製品検査を利用できない。

15.3 リスクマネージメント 15.3.4 達成基準

- FS0達成のために製造工程の各段階またはいくつかの段階で達成すべき結果。
- 第3章の式が使える。
- $H_0 - \sum R + \sum I \leq \text{達成基準}$
- サルモネラは 10^{-8}
- $H_0 - \sum R + \sum I \leq -8$
- H_0 サルモネラの初菌数 (Log)
- $\sum R$ サルモネラの累積減少菌数 (Log)
- $\sum I$ サルモネラの累積増加菌数 (Log)

15.3 リスクマネージメント 15.3.4.1 原料の初菌数制御

- 集荷された生乳は迅速に冷蔵し 7°C 以下に維持し、菌数増加を防止すること。
- 物理化学試験の一つに温度チェックがある。
- 衛生対策の効果判定に全生菌数と大腸菌群数を特定する。粉ミルクの第一段階はごみや牛乳の粒子の塊や細胞を取り除き分離機を使用しクリームを取り除く。この設備の洗浄が適切であること。
- 生乳のサルモネラは通常、非常に少なくわずか 1cfu/ml ($H_0=0$) に過ぎない。

15.3 リスクマネージメント 15.3.4.2 生乳の低温殺菌による菌数減少

- 低温殺菌は非常に重要でCCP (重要管理点)とされている。
- 再汚染を回避するために熱交換器の低温殺菌済み牛乳の側を加圧し続けることが必要である。
- 殺菌装置が正常に作動しないときや冷却時にサルモネラを吸い込む可能性があるため、サルモネラの菌数管理が出来なくなる。
- 生乳のサルモネラの初菌数を 1cfu/ml ($H_0=0$) と仮定すると、 $\sum R=-8$ となり、低温殺菌で8桁減少させる必要がある。

15.3 リスクマネジメント

15.3.4.3 工場での再汚染回避による菌数増加防止

- ・ 低温殺菌された牛乳は噴霧乾燥前に濃縮する蒸発器を通過する。
- ・ 濃縮作業と噴霧作業の間にバランスタンクがあり、ここで再汚染させないためにはバランスタンクは清潔で、サルモネラフリーの環境に設置する必要がある。エアも清浄である必要がある。
- ・ ウエットなエアとスプレードライヤー以降のドライエアを隔離することが必要である。
- ・ ドライエアの清浄性とその維持、清浄なエアが重要である。

15.3 リスクマネジメント

15.3.4.3 工場での再汚染回避による菌数増加防止(つづき)

- ・ サルモネラの初菌数が1cfu未満/gで低温殺菌で8桁減少させたときの達成基準を満たす場合には

$$0-8+\sum I \leq -8 \\ \Rightarrow \sum I = 0$$

15.4 製品と工程の基準

- ・ 低温殺菌は72°C15秒間または80°C5秒間牛乳を加熱する。
- ・ 粉ミルクでは、再汚染を防ぐことが重要である。機械装置、環境、塵埃、害虫、エア等をサルモネラフリーにして、100トン当たり、1サルモネラ未満にすることである。
- ・ 100トンにはMサイズの噴霧乾燥器を30時間製造する間に再汚染がないことに相当する。

15.5 GHPとHACCP

- ・ 安全な粉ミルクを製造する為の基本は数十年にわたって構築されたGHPを適用すること。
- ・ 最終製品の粉ミルクのサルモネラ予防は最終加熱処理以降に再汚染を防ぐことにかかっている。
- ・ HACCPプランの設定時にはサルモネラ汚染の原因と増殖の可能性を特定し防御対策を導入してモニタリングの記載実行をおこなうこと。
- ・ 塵埃、牛乳残渣、エア、作業員、保守要員、塵埃、原料倉庫、製品倉庫、包装資材、機械の洗浄等が重要である。

15.5 GHPとHACCP

15.5.1 生乳から消費者までのモニタリング・確認検査

- ・搬入される生乳の品質とサルモネラ汚染の程度は乳製品製造工場の管理下にはない。しかし、製造施設が生乳の衛生状態に影響を与える。
- ・生乳については凝固点測定・メチレンブルー試験、フィルステスト・一般生菌数・細胞数・酸度試験でモニタリングできる。
- ・温度・時間の監視、サルモネラの侵入防止措置が必要である。
- ・HACCPプログラムに従ったモニタリングで可能。効果の確認が必要。

15.6 最終製品の受け入れ基準

15.6.1 官能的基準

- ・粉ミルクは乾燥されており、流動性をもつ。冷水やぬるま湯でも容易に溶ける。色調は白か乳白色。酸敗臭がないこと。未開封パッケージでは損傷がないこと。
- 製造・貯蔵・流通段階においてGHP遵守されていることの証拠となる。
- ・GHPの逸脱が安全上の問題を招くことがあるので、異常がみつかった製品をさらに検査せずに受け入れられてはならない。

15.6 最終製品の受け入れ基準

15.6.2 化学的・物理的基準

- ・水分量・脂肪/タンパク質量・溶解性などの検査が行われている。それらの検査の多くは製品の安全性とは無関係である。
- ・アフラトキシンM、抗生物質、農薬などの検査が規則の遵守状況を確認するために行われることもある。
- ・高水分活性値を示すものは微生物の増殖の可能性があるため、通常の官能検査で除外する。

15.6 最終製品の受け入れ基準

15.6.3 微生物学的基準

- ・一般生菌数 (APC)、大腸菌群、腸内細菌科細菌、さらにサルモネラの試験が行われることが多い。
- ・APCでは $n=5, c=2, m=3 \times 10^4, M=10^5$ の3階級サンプリングプランのケース2が選ばれる。GHP/HACCPとは直接関係ない。(通常の微生物レベルの場合)
- ・ケース5は $n=5, c=1, m=10, M=10^2$ で大腸菌群検査に利用される。GHP/HACCPの遵守状況を示すもの。

15.6 最終製品の受け入れ基準

15.6.3 微生物学的基準 (つづき)

- ・ ケース10、11、12は通常サルモネラ試験が行われる食品に利用される。
- ・ 試料数はそれぞれ5、10、20で、試料単位は通常25gである。
- ・ 粉ミルクの場合ケース11が適し、試料数は30が最も適している。
- ・ 高リスク集団が対象の場合は試料数を15、30、60に増やすことが出来る。
- ・ ケース11では (細菌の平均濃度から95%の確率で検出できると考えられるため、標準偏差を0.8と仮定して) 1cfu以上/83g存在すれば、95%の信頼度でサルモネラが検出される。

第16章 加熱食肉製品(フランクフルトソーセージ)中の リステリアモノサイトゲネス

国立医薬品食品衛生研究所
岡田 由美子



- 16.1 序論
- 16.2 リスク評価
- 16.3 リスク管理
- 16.4 加工及び製品の基準
- 16.5 GHP とHACCP
- 16.6 最終製品の受け入れ可能基準

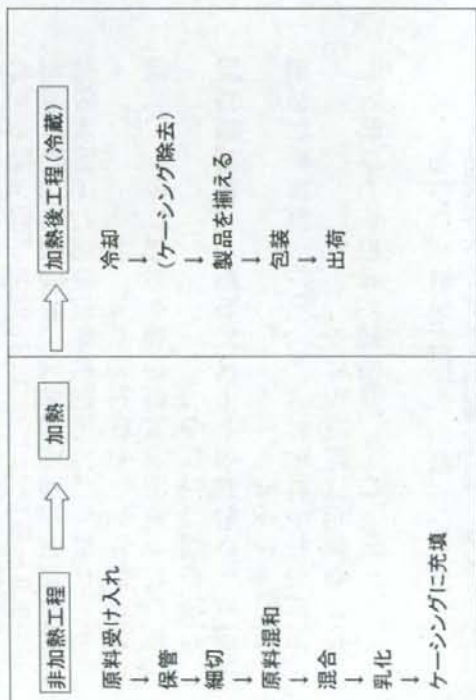
16.1 序論

- ・ RTE食品中の増殖可能な微生物危害の例としてリステリアを検討する
- ・ HACCPに関連した達成基準、加工基準、バリデーションの活用
- ・ GHP及び環境中の微生物制御を評価するためのサンプリングプログラム

ソーセージの加工工程

- ・ 内部温度70度以上で加熱
 - ・ スモークまたは燻製液の添加
- 蛋白の凝固、色調、殺菌

ソーセージの製造工程



16.2 リスク評価

- ・ 人口100万人当たり年間2～6例が発生し、うち20～30%が死亡
- ・ 13血清型のうち、患者から分離される株は大半が4b、1/2b及び1/2a
ヨーロッパでは4bが、北米では3血清型がほぼ同数
- ・ 全血清型に発症の可能性はある
- ・ 通性嫌気性の非芽胞形成グラム陽性桿菌で
発育可能温度 -0.4～45℃
水分活性 ≥0.92
塩分濃度 ≤10%
- ・ 自然界に広く分布し、健康保菌者も存在する
≥70℃の加熱で不活化される

16.2.2 健康被害解析

- ・ ヒトの実験的用量反応データはなく、最小感染量(MID, minimum infectious dose)は不明
- ・ 代替アプローチとして、疫学データと汚染食品中の微生物菌数の推定値の組み合わせを用いて行う用量反応研究も十分なデータが不足
- ・ リスク評価時には、腸管型または慢性的、健康者またはハイリスク群について異なる評価をすべきである
- ・ 食品媒介リステリア症
 - (1) 散发例 食品の情報ほとんどない
 - (2) 単一ロットの汚染食品が関与する集団事例
 - (3) 拡大型集団事例 少数の事例が時間や場所と共に大きく拡大

食品加工業者は、(3)の発生を予防し、(1)及び(2)のリスクを最小限に抑えるシステムを構築しなければならない

16.2.4 リスク特性解析

米国でのフランクフルター消費量は年間 20×10^9 個(60個/人) 人口2億7000万人(1998) 中 1350例 のリステリア症

- ・ その1%(13.5例)がフランクフルター由来

20×10^9 個消費で13.5例

- ・ 全人口の20%(5400万人)が免疫不全

$(54 \times 10^6) \times 60 = 3.24 \times 10^9$ 個消費

- ・ 全症例が免疫不全者とする

3.24×10^9 個ごとに13.5例

約6倍

16.2.3 暴露評価

- ・ リステリアはさまざまな調理済み食品から検出される。
 $100 \sim 1 \times 10^6$ CFU/g
USDAのモニタリングではソーセージで1993年から1995年にかけて5.3%から1.8%

- ・ 加工工程における段階的加熱工程(step-heating)により、菌数が減少
- ・ 包装前の管理されていない環境条件が最終製品の汚染の主たる要因
- ・ 低温保存、真空包装下でも菌は増殖可能
- ・ 増殖に影響を与える要因は、
初期/最終段階での乳酸菌の菌数
初期のpH

16.2.4 リスク特性解析

リステリア症の原因となったフランクフルターの汚染度は高レベル
(1×10^6 CFU/g以上)

市販フランクフルターの5%がリステリア陽性、その10%未満が高レベル汚染

ハイリスク群が購入する高レベル汚染フランクフルター数は1年に

$$3.24 \times 10^9 \times 0.05 \times 0.10 = 16.2 \times 10^6$$

その1割で再加熱が不十分だと、暴露頻度は $16.2 \times 10^6 \times 0.1 = 1.62 \times 10^6$

1.62×10^6 個あたりP(感染率) = 13.5例(すなわち、摂取量12万個あたり約1例)
もしくは $P = 8.3 \times 10^{-6}$

16.3 リスク管理

- 先進国での年間リステリア発症数は 人口100万人当たり2~6例
- FSOの設定

現実には100 CFU/gの菌を毎日摂取していると思われるが罹患していない
100 CFU/gの製品規格を設定した国での罹患率に変化がない
集団事例の原因食品の汚染量は100 CFU/gより高い

フランクフルターに含まれる *Listeria monocytogenes* 濃度は、摂食時において
100 CFU/gを超えてはならない。

・ 防除対策

- 原料・初期レベルを最小限に抑える
- 製造工程(加熱時)の達成基準を設定
- 加熱後から包装までの再汚染の防止
- 包装後殺菌
- 包装から調理までの増殖防止 (添加物、日付表示、冷凍保存等)
- 喫食前加熱

16.3.4. 達成基準

原料受け入れ→保管→細切→原料混和→混合→乳化→ケーシングに充填
→加熱→冷却→ケーシング除去)→検品→包装→出荷

原料の初期汚染レベルの制御

- 4°C、pH6.0での10倍増殖に要する日数は
- 好気条件、食塩1.5%、亜硝酸ナトリウムなしで 6日 あり
- 嫌気条件、食塩1.5%、亜硝酸ナトリウムなしで 4.9日 あり
- 製造工程での加熱の前に10倍に増えると仮定すると、
- H_0 は、1000 CFU/g 未満 = 3log
- 加熱によるレベル削減は $3 - \Sigma R + 0 \leq 2.0$

$$\Sigma R = 1$$

実際にはより厳格に、6log削減とし、加熱後の達成基準は ≤ 1 CFU/kg

$$3 - \Sigma R + 0 \leq -3$$

$$\Sigma R = 6$$



Figure 16.3.4.1. Final objective for cooking intervention.

16.3.4. 達成基準

原料受け入れ→保管→細切→原料混和→混合→乳化→ケーシングに充填
→加熱→冷却→ケーシング除去)→検品→包装→出荷

フランクフルターにおけるリステリアFSO: ≤ 100 CFU/g = 2log

それを満たすための達成基準は

$$H_0 - \Sigma R + \Sigma I \leq FSO = 2.0$$

USDAの調査で、牛ひき肉(563検体)の18%、七面鳥ひき肉(165検体)の
23(32?)%、鳥ひき肉(162検体)の35(36?)%からリステリア分離

汚染の相乗平均は 3.9、3.8及び2.24 CFU/g

牛ひき肉陽性検体の90.4%は30 CFU/g 未満

→ 通常の条件下で予測される汚染レベルは100 CFU/g以下

16.3.4. 達成基準

調理後の再汚染防止

GHP: 工場の配置、設備の設計、メンテナンス、低温保存など
プログラムの有効性に与える要因: 環境検査と陽性検出時の対応
モニタリングプログラムの留意点:

ニッチなどでの定着防止

迅速な環境評価

陽性検体検出時の迅速・効果的対応

汚染排除の立証と、評価しやすいデータの提供

再汚染によって達成基準 ≤ 1 CFU/kg を超えないようにするには、

$$H_0 - \Sigma R + \Sigma I \leq -3$$

$$3 - 6 + \Sigma I \leq -3$$

$$\Sigma I = 0$$

でなくてはならない



Figure 16.3.4.2. Final objective for cooking intervention.

$H_0 = 3.8 + 2.3 \times \log_{10}(\text{Population estimate}) \times 10^{-4}$

16.3.4.2.1.1

201.9

Figure 16.3.4.1. Final objective for cooking intervention.