

			く、増殖は促さないとされる。標準 GMP も病原菌による再汚染の可能性を減らす。
4.c	どの病原菌が、不活化工程後に本食品を再汚染する可能性があるか？	肉の詰め物は、パイシエル内に含まれているため、再汚染の可能性は低い。	
4.d	標的的食品または関連食品に、病原菌の蔓延を示唆するベースライン調査があるか？	いいえ、ミートパイ製品では、調査はない。	
4.e	増殖抑制 (TCS) 試験について：		
4.e.1	どの病原菌が最も速く増殖するか？グラム陽性 vs グラム陰性、栄養微生物 vs 芽胞形成菌を考慮すること。食品がシーフードでなければ、ビブリオ属は検討から外してよい。予測モデルを用いるか、適用可能な文献を引用せよ。必要に応じて、1.5 倍の消費期限で増殖の可能性を検討せよ。	予測モデルからセレウス菌 (4.e.2 を参照)。	
4.e.2	予測モデル	<p>予測モデルを使い、肉の詰め物におけるウエルシュ菌、ボツリヌス菌、セレウス菌の増殖を比較・計測した。</p> <p>ウエルシュ菌の 1 ログ増加について、PMP は「pH 6.2, Aw0.983 (プログラムでの最低 Aw), 37°C (プログラムでの最高温度) としたとき、約 32 時間以内」、ComBase Predictor は「pH 6.2, Aw 0.971, 37°C (98.6°F) としたとき、約 13 時間以内」と予測している。</p> <p>ボツリヌス菌について、PMP は「pH 6.2, Aw0.977 (プログラムでの最低 Aw) としたとき、26.7°C (推定室温 80°F) で 10 日超で増殖」と予測。ComBase は「pH 6.2, Aw0.97, 37°C (98.6°F) としたとき、タンパク分解性のボツリヌス菌は約 2 日の時間差、30°C (86°F) で Aw0.974 (本モデルの最低許容条件) としたとき、タンパク非分解性のボツリヌス菌はそれより若干短い時間差」と予測している。</p>	<p>モデリングには全て誘導期を含めた。芽胞形成性微生物には、発芽と成長の両方が必要であることを考えれば、これは適切と思われる。</p> <p>予測モデルは、セレウス菌はクロストリジウム・パーフリンジェンスよりも増殖が速く、両微生物は共に、ボツリヌス菌よりも増殖が速いと推測している。</p>

		セレウス菌の1ログ増加について、PMPは「pH6.2, Aw0.97, 37°C (98.6°F)の好気条件下では5時間、嫌気条件下では約12時間以内」、ComBaseは「pH6.2, Aw0.97, 37°C (98.6°F)でCO ₂ が0%としたとき、約14時間以内」と予測している。	
4.e.3	文献と選択を比較せよ。	香辛料は肉の詰め物の成分である。セレウス菌は、香辛料の既知の汚染菌である(88)。	
4.e.4	増殖または生存に関する情報は、まだ他にも何かあるか？	いいえ。	
4.e.5	上記の分析から、増殖抑制試験に選ばれる被験微生物は何か？	セレウス菌。	
4.f	不活化試験の場合：	NA	
4.f.1	どんな死滅の処置(HPP, 熱, 酸等)があるか？		
4.f.2	死滅の処置(HPP, 熱, 酸等)に最も耐性のある微生物はどれか？		
4.f.3	病原菌が存在する可能性のある本食品の全域にわたって、菌は死滅するか？全表面と内部の汚染について説明せよ。		
4.f.4	組成において、不活化に影響するかもしれないものに何かがあるか？(aw, 水分, 塩, pH, 脂質等の内因子が死滅や耐性に関与する可能性がある)		
4.f.5	本食品中の病原菌量に関するデータは何かあるか？		
4.f.6	本食品のログ低減に、規制要件または方針があるか？要件を引用せよ。		
4.f.7	ログ低減に規制要件がない場合、受け入れ可能な低減を判断するのに、科学的根拠を用いよ(21, 76)。		
4.f.8	上記の分析から、不活化試験に選ばれる被験微生物は何か？		

5	チャレンジ試験の適切な期間とサンプル採取時点を決める		
5.a	増殖抑制 (TCS) 試験の試験期間は、消費期限の 1.25~1.5 倍で検討せよ。	1.5×14 時間 (目標消費期限+消費者の手に渡って最大 2 時間) =21 時間。	
5.a.1	製造から消費までの最大期間	冷蔵で最大 7 日間, 室温で 12 時間+店舗を離れてから消費までの 2 時間. 消費前に加熱することも, しないこともある.	
5.a.2	腐敗または受け入れ難い品質になるまでの実際の期間	冷蔵で 7 日間の消費期限を想定. 室温では, 2 日後に腐敗するようである.	
5.a.3	増殖抑制試験では, 微生物分析に適切なサンプル採取時点を決めること. サンプル採取時点は, 5 回~7 回が推奨される. 採取時点が少なければ, 正当な理由が必要である (類似食品の結果を使用等).	0, 14, 21 時間の時点.	本食品は消費期限が非常に短く, 予測モデルも本試験の時間枠では限定的な増殖 (約 1 ログ単位の増殖) を推定していることから, サンプル採取時点は, 0, 14 (目標消費期限の最終日), 21 時間 (目標消費期限の 1.5 倍) と設定.
5.b	不活化試験では, 工程や組成を考慮して, 適切なサンプル採取時点を決めること. 0 時点と工程終了時には, 密度を同定する. できる限り, 中間でもサンプルを採取し, 死滅曲線を判断する.	NA	
5.b.1	不活化の処置が不十分に終わる可能性がある場合, 消費期限に微生物が回復・増殖するか, 検討すること (21).	NA	
6	接種, 保管, 試験手順を決める		
6.a	試験に用いる菌株を決める (各菌種につき複数株使用を推奨. 適切な食品または臨床分離株の使用を検討すること)	セレウス菌株 3 つ以上を使用.	これには, 食品媒介で大流行した疾患の臨床菌株と食品分離菌株の複合物を含めること.
6.b	接種材料の調製に適応が必要かどうか?	適応は不要.	
6.c	接種方法を決める (表面, 混合, 浸漬, 液体, 乾燥等)	接種材料はパイ生地を通じて肉詰め注入.	接種材料の芽胞は, 製造業者が提供する肉詰めと混ぜる.
6.d	接種量を決める (密度, log CFU/g, 1 包装当たりの CFU, 接種材料の割合 [vol/wt または vol/vol])	2~3 log CFU/g (詰め物の量の 0.1%未満にする).	接種量は, 0 時点の肉詰めサンプルを使って確認する.

	等)		
6.e	用いる包装を決める	食品ラップ.	
6.f	増殖抑制試験での培養温度または加熱不活化試験での温度を決める	30 °C (86°F) で培養.	最大常温として妥当である.
6.g	サンプル採取方法とサンプルサイズを決める	複製したミートパイは、各時点3ロットの複製それぞれからサンプル採取する。各サンプル全体を1:10に希釈した緩衝液に混合または溶解する。複製の生菌数を各サンプルにつき計測する。	
6.h	データの確実性を確保するのに、複製はいくつ必要か？一般分析または製造にばらつきが見られれば、反復試験を数回以上行うことは認められるか？複数組の類似組成を試験すべきか？組成を選択するのに統計デザイン（ブロック計画、中心複合等）は使用しているか？	3ロットの複製を試験するが、ロットは別々のバッチの成分から作製するか、別の日に試験するのが望ましい。	組成が異なれば、組成につき複製は3つ。
7	他の対照を決める		
7.a	サロゲートの使用は適切または必要か？そうであれば、正当化せよ。	サロゲートは適切または必要ではない。	
7.b	腐敗や競合細菌叢の評価、または他の目的のために、未接種の対照が必要か？	自然汚染をモニターするため、各複製ロットにつき未接種の対照1つが必要。	
7.c	他の対照に何が必要か？（増殖の陰性・陽性対照を含む）	本試験では不要。サンプルが十分な期間おかれる場合には、増殖を想定する。	
8	判定基準を決める		
8.a	判定基準は何か？	セレウス菌の増殖は、3ログ以下であること。	パチルス・セレウスに選択した3ログという値は、IFT報告書(59)の提案に基づくものである。 もっと低い数値の方が適切と考える規制当局もあるかもしれない。
8.b	本結果を利用するのに、限界は何か？	これらの結果は、常温より高いところ（加熱ランプ下等）におかれるパイには適用できない。	

^aNA：該当なし。

付録 H. 食品チェックリスト：レモンメレンゲパイ

レモンメレンゲパイの組成が、非冷蔵条件下で病原菌の増殖を抑制することの検証			
	検討事項	回答	追加コメント
1	本試験の目的を決める		
1.a	安全のための時間・温度管理 (TCS) の適用除外 (冷蔵不要)	開封後の時間・温度管理の適用除外.	ラベル表示されている消費期限は 3 日間.
1.b	規制要件の適用変更 (温度管理せずに 4 時間を超えておく等)	NA ^a	
1.c	死滅の検証	NA	
1.d	冷蔵食品または軽度の温度変動下において、組成が微生物の増殖抑制になることを立証	NA	
2	本食品に関する情報を収集する		
2.a	食品の成分は何か?	パイ皮：小麦粉，ショートニング，水，塩。 詰め物：水，砂糖，加工デンプン，固形コーンシロップ，マーガリン，固形レモンジュース，ブドウ糖果糖液糖，クエン酸ナトリウム，寒天，ソルビン酸カリウム，天然香料，ローカストビーンガム，着色料 (FD&C Yellow No.5). メレンゲ：非低温殺菌の卵白，砂糖，クリームオブターター.	
2.a.1	各種の源やロット間において，成分の一致度はどうか?	よく一致しており，ロット間で同一または類似.	
2.a.2	食品および・または各コンポーネントの pH, Aw, 一般分析 (水分，塩分，脂質，タンパク質，残存亜硝酸塩等) はどうか?	焼いた皮：pH 6.2, Aw0.45. 調理済みの詰め物：pH 4.2, Aw0.88. メレンゲ：pH 4.6, Aw0.93.	ベーキング後の数値.
2.a.3	これらの値は，準備から消費までの間で変化するか?	いいえ.	
2.a.4	寸法 (カットやピース等) はどうか? (該当の場合)	NA	

2.a.5	製造開始時と完成時の一般的な微生物負荷（種属等）はどうか？	ベーキング後の生菌数は、10 CFU/g 未満。	
2.a.6	汚染が各コンポーネントに取り込まれる、またはコンポーネントに広がる可能性があるか？	はい、スライスの際、全3つのコンポーネント（皮、詰め物、メレンゲ）をスライスした切り口に沿って汚染が発生する可能性がある。	
2.b	加工調製工程はどうか？	生地をこね、シートにし、形を整え、焼く。詰め物を調理してスターチをセットし、焼いた皮に詰め、常温に冷まし、詰め物と焼いたものの上にメレンゲを均一に広げて塗る。常温に冷まして、包装する。	製品は商業的製造施設にて製造され、室温に冷まして包装し、常温で配送する。
2.b.1	本食品は、組み立て食品（複数コンポーネントから成る食品）か？	はい。	
2.b.2	検証済みの微生物低減工程があるか？微生物低減工程に関連するパラメータは何か？コンポーネントが異なれば、微生物低減工程も異なるか？	全3つのコンポーネントに加熱工程による不活化を行う。	
2.b.3	再汚染の可能性はあるか？	はい、開封後とスライス時に汚染が発生する可能性がある。	
2.b.4	死滅や増殖に影響するパラメータに、どんなばらつきが見られるか？	ばらつきは少ない。	
2.b.5	本食品はどのように包装されているか？	紙箱か、プラスチック製のドームカバーをアルミ製のパイプレートにかぶせる。	
2.b.6	本食品は、培養または発酵しているか？意図的にスターター培養株を添加しているか？	いいえ。	
2.b.7	本食品には、抗菌剤（保存料）やその他、香辛料等の抑制性の成分が含まれるか？	クエン酸ナトリウムとソルビン酸カリウムを詰め物に使用。	
2.c	保管条件はどうか？		
2.c.1	本食品は、販売用にどのように陳列されるか？陳列するのに、包装に変更があるか？	冷蔵または常温で陳列。包装に変更なし。	
2.c.2	製造、準備、保管または陳列の間、予想される温度（および時間）はどのくらいか？	ベーキング後、常温に冷まして配送し、ラベル表示の消費期限（3日間）の最後まで、常温 20~35°C（68~95°F）で陳列する。	5日間で受け入れ難い品質になる。

2.c.3	上記の 2.c.2 にリストした温度を超えて保管または陳列された場合、どのような可能性があるか？	その可能性は低い。	
2.c.4	準備、保管または陳列によって生じる恐れのあるハザードは他にもあるか？	いいえ。	しかし、スライス時や給仕中にハザードが導入される可能性がある。
2.c.5	製造から消費までの予想最大期間は？	3 日間。	
2.c.6	腐敗または受け入れ難い品質になるまでの期間は？	5 日間。	
3	増殖または不活化に関する食品評価が必要かどうかを判断する		
3.a	pH と aw から考えて、増殖に関する食品評価が必要か？（付録 D の表 A と B を参照。）はいの場合、4.e と 5.a にも答えよ。	はい、表 B に従って、メレンゲコンポーネントには食品評価が必要だが、皮や詰め物には不要である。	
3.b	不活化試験は必要か？はいの場合、4.f と 5.b にも答えよ。	はい、メレンゲには別に不活化試験を実施中。	
3.c	死滅（不活化）または TCS（増殖）に適用できる規制があるか？	はい、試験の目的は、TCS（安全のために時間・温度管理の必要）の適用変更を認めてもらうことである。	
4	チャレンジ試験で検討する懸念される病原菌を決める		
4.a	表 2 と付録 C から、どの病原菌が懸念されるか？食品がシーフードでなければ、ビブリオ属は検討から外してよい。	付録 C から、卵製品に懸念される病原菌は、サルモネラとリステリアである。表 2 の pH 4.6 と Aw 0.94 から、リステリア・モノサイトゲネスとサルモネラが懸念される微生物と考えられる。	
4.b	環境、食品、疫学的な経緯から考えて、発生する可能性が合理的に高いのはどの病原菌か？（付録 C も参照）	サルモネラとリステリア・モノサイトゲネスは、小売および食品サービス環境では知られている。	
4.c	どの病原菌が、不活化工程後に本食品を再汚染する可能性があるか？	サルモネラとリステリア・モノサイトゲネス。	
4.d	標的食品または関連食品に、病原菌の蔓延を示唆するペースライン調査があるか？	小売のデリ環境におけるリステリアの存在を報告している試験がある (68)。	
4.e	増殖抑制 (TCS) 試験について：		
4.e.1	どの病原菌が最も速く増殖するか？グラム陽性 vs グラム陰性、栄養微生物 vs 芽胞形成菌を考えるこ	4.e.2 を参照。	

	と、食品がシーフードでなければ、ビブリオ属は検討から外してよい。予測モデルを用いるか、適用可能な文献を引用せよ。必要に応じて、1.5倍の消費期限で増殖の可能性を検討せよ。		
4.e.2	予測モデル	リステリア・モノサイトゲネスは増殖しないと PMP は示唆するが、pH 5.6 以下のサルモネラはモデル検討していないため、メレンゲにおける pH と A_w 条件下の増殖速度は不明。	
4.e.3	文献と選択を比較せよ。	文献によれば、サルモネラとリステリア・モノサイトゲネスは、pH 4.6 で増殖し得る。これらの試験の大半は、高 A_w の実験培地で行われたもの。	
4.e.4	増殖または生存に関する情報は、まだ他にも何かあるか？	いいえ。	
4.e.5	上記の分析から、増殖抑制試験に選ばれる被験微生物は何か？	サルモネラ。	予測モデルまたは文献から、サルモネラの増殖可能性を判断できないため、この微生物をチャレンジ試験に選択した。
4.f	不活化試験の場合：	NA	
4.f.1	どんな死滅の処置（HPP、熱、酸等）があるか？		
4.f.2	死滅の処置（HPP、熱、酸等）に最も耐性のある微生物はどれか？		
4.f.3	病原菌が存在する可能性のある本食品の全域にわたって、菌は死滅するか？全表面と内部の汚染について説明せよ。		
4.f.4	組成において、不活化に影響するかもしれないものに何かがあるか？（ a_w 、水分、塩、pH、脂質等の内因子が死滅や耐性に関与する可能性がある）		
4.f.5	本食品中の病原菌量に関するデータは何かあるか？		
4.f.6	本食品のログ低減に、規制要件または方針があるか？要件を引用せよ。		

4.f.7	ログ低減に規制要件がない場合、受け入れ可能な低減を判断するのに、科学的根拠を用いよ (21, 76).		
4.f.8	上記の分析から、不活化試験に選ばれる被験微生物は何か?		
5	チャレンジ試験の適切な期間とサンプル採取時点を決める		
5.a	増殖抑制 (TCS) 試験の試験期間は、消費期限の 1.25~1.5 倍で検討せよ.	3 日間×1.5=4.5 日間 (四捨五入して 5 日間).	
5.a.1	製造から消費までの最大期間	3 日間.	
5.a.2	腐敗または受け入れ難い品質になるまでの実際の期間	5 日間.	
5.a.3	増殖抑制試験では、微生物分析に適切なサンプル採取時点を決めること. サンプル採取時点は、5 回~7 回が推奨される. 採取時点が少なければ、正当な理由が必要である (類似食品の結果を使用等).	0 時点, その後 1, 2, 3, 4, 5 日時点のサンプル.	
5.b	不活化試験では、工程や組成を考慮して、適切なサンプル採取時点を決めること. 0 時点と工程終了時には、密度を同定する. できる限り、中間でもサンプルを採取し、死滅曲線を判断する.	NA	
5.b.1	不活化の処置が不十分に終わる可能性がある場合、消費期限に微生物が回復・増殖するか、検討すること (21).	NA	
6	接種、保管、試験手順を決める		
6.a	試験に用いる菌株を決める (各菌種につき複数株使用を推奨. 適切な食品または臨床分離株の使用を検討すること)	卵または卵製品から分離したサルモネラ菌株を最低 5 つ混合し、大流行に関連する臨床または卵サンプルから分離したサルモネラ・エンテリティディス菌株を 1 つ以上含める.	
6.b	接種材料の調製に適応が必要かどうか?	本試験では必要ない.	
6.c	接種方法を決める (表面, 混合, 浸漬, 液体, 乾燥等)	スライスしたパイ 1 切れのメレンゲのカット面に接種. 詰め物とメレンゲの接触面からメレンゲ表面にか	科学文献に報告がなければ、予備試験を実施して、色素がサルモネラにとって抑制性でな

		けて、25 μ 5の液体接種材料が行き渡るようにする。非抑制性の色素を接種材料に添加して、サンプル採取域を識別できるようにする。	いことを確かめること。
6.d	接種量を決める (密度、log CFU/g、1包装当たりのCFU、接種材料の割合 [vol/wt または vol/vol] 等)	各スライス1部位につき目標 2~3 log CFU.	
6.e	用いる包装を決める	スライスの汚染は防ぐが、空気を入れ替えることのできる換気付きのプラスチック容器に入れる。	
6.f	増殖抑制試験での培養温度または加熱不活化試験での温度を決める	35°C (95°F).	
6.g	サンプル採取方法とサンプルサイズを決める	各サンプルにつき、スライス全体 (約 100g) をサンプル採取用の滅菌袋に入れ、同量の 0.1%ペプトン緩衝液でサンプルを均質化し、FDA BAM 法 (7) を使って、連続希釈したものを適切なサルモネラ選択寒天上におく。	
6.h	データの確実性を確保するのに、複製はいくつ必要か? 一般分析または製造にばらつきが見られれば、反復試験を数回以上行うことは認められるか? 複数組の類似組成を試験すべきか? 組成を選択するのに統計デザイン (ブロック計画, 中心複合等) は使用しているか?	反復試験は3回実施。各試験で異なる成分バッチから作ったパイを使用。試験につき3組のスライス。各サンプル採取時点 (各サンプル採取時点でn=9) のスライスを個別に分析する。	サンプル採取の各時点で、個々のスライスへの接種にばらつきが生じるため、各時点につき3サンプルを使った反復試験を3回行うことを選択した。
7	他の対照を決める		
7.a	サロゲートの使用は適切または必要か? そうであれば、正当化せよ。	サロゲートは必要ない。	
7.b	腐敗や競合細菌叢の評価、または他の目的のために、未接種の対照が必要か?	はい。	生菌数と酵母菌やカビをカウントするのに未接種のパイが必要。
7.c	他の対照に何が必要か? (増殖の陰性・陽性対照を含む)	NA	
8	判定基準を決める		
8.a	判定基準は何か?	5日間の試験期間を通し、サルモネラの増殖は、1口	

		グ未満であること。	
8.b	本結果を利用するのに、限界は何か？	詰め物とメレンゲのどちらにおいても、pHとAwが非常に類似したメレンゲパイにのみ適用可能。	

^aNA：該当なし。

付録I. 食品チェックリスト：メレンゲトッピング

レモンメレンゲパイのメレンゲトッピングに懸念される病原菌に対し、加熱による不活化の適切性を評価			
	検討事項	回答	追加コメント
1	本試験の目的を決める		
1.a	安全のための時間・温度管理 (TCS) の適用除外 (冷蔵不要)	NA ^a	
1.b	規制要件の適用変更 (温度管理をせずに4時間超えておく等)	NA	
1.c	死滅の検証	メレンゲトッピングの加熱処置 (ベーキング) による死滅を検証.	
1.d	冷蔵食品または軽度の温度変動下において、組成が微生物の増殖抑制になることを立証	NA	
2	本食品に関する情報を収集する		
2.a	食品の成分は何か?	パイ皮：小麦粉，ショートニング，水，塩。 詰め物：水，砂糖，加工デンプン，固形コーンシロップ，マーガリン，固形レモンジュース，ブドウ糖果糖液糖，クエン酸ナトリウム，寒天，ソルビン酸カリウム，天然香料，ローカストビーンガム，着色料 (FD&C Yellow No.5). メレンゲ：非低温殺菌の卵白，砂糖，クリームオブターター.	2005年 Food Code に対する 2007年補足版は，メレンゲに低温殺菌済みの卵白を使用するよう指定している。これは，不活化チャレンジ試験を説明している一例で，非低温殺菌卵白の使用に対して適用変更を認めてもらうのに使われる可能性がある。
2.a.1	各種の源やロット間において，成分の一致度はどうか?	よく一致しており，ロット間で同一または類似.	
2.a.2	食品および・または各コンポーネントの pH, Aw, 一般分析 (水分，塩分，脂質，タンパク質，残存亜硝酸塩等) はどうか?	焼いた皮：pH 6.2, Aw 0.45. 調理済みの詰め物：pH 4.2, Aw 0.88. 生メレンゲ：pH 4.6, Aw 0.93.	
2.a.3	これらの値は，準備から消費までの間で変化するか?	露出面のメレンゲの Aw は，低下する可能性がある.	
2.a.4	寸法 (カットやピース等) はどうか? (該当の場合)	NA	

2.a.5	製造開始時と完成時の一般的な微生物負荷（種属等）はどうか？	調理前の生菌数は、1,000 CFU/g 未満。 ベーキング後の生菌数は、10 CFU/g 未満。	
2.a.6	汚染が各コンポーネントに取り込まれる、またはコンポーネントに広がる可能性があるか？	メレンゲトッピングに使用する非低温殺菌卵白には、サルモネラがいる可能性がある。	
2.b	加工調製工程はどうか？	生地をこね、シートにし、形を整え、焼く。詰め物を調理してスターチをセットし、焼いた皮に詰め、常温に冷まし、詰め物と焼いたものの上にメレンゲを均一に広げて塗る。常温に冷まして、包装する。	製品は商業的製造施設にて製造され、室温に冷まして包装し、常温で配送する。
2.b.1	本食品は、組み立て食品（複数コンポーネントから成る食品）か？	はい。	
2.b.2	検証済みの微生物低減工程があるか？微生物低減工程に関連するパラメータは何か？コンポーネントが異なれば、微生物低減工程も異なるか？	本試験の目的である。全3つのコンポーネント（皮、詰め物、メレンゲ）に加熱工程による不活化を行うが、皮は2回、詰め物は2回加熱処理して、pHを考慮した不活化工程を追加しており、メレンゲの加熱処理は1回である。	
2.b.3	再汚染の可能性はあるか？	可能性は非常に低く、商業的製造施設では、GMPにより管理されている。	
2.b.4	死滅や増殖に影響するパラメータに、どんなばらつきが見られるか？	ばらつきは少ない。	
2.b.5	本食品はどのように包装されているか？	紙箱か、プラスチック製のドームカバーをアルミ製のパイプレートにかぶせる。	
2.b.6	本食品は、培養または発酵しているか？意図的にスターター培養株を添加しているか？	いいえ。	
2.b.7	本食品には、抗菌剤（保存料）やその他、香辛料等の抑制性の成分が含まれるか？	クエン酸ナトリウムとソルビン酸カリウムを詰め物に使用。	
2.c	保管条件はどうか？		
2.c.1	本食品は、販売用にどのように陳列されるか？陳列するのに、包装に変更があるか？	冷蔵または常温で陳列。包装に変更なし。	
2.c.2	製造、準備、保管または陳列の間、予想される温度（および時間）はどのくらいか？	皮の調理：最終温度 85°C (185°F) で、176.7°C (350°F) の非加湿式のオーブンで調理時間計 15 分。	メレンゲの調理時間は、特有の焼き色をつけるのに必要な時間に基づく。

		詰め物のセット：90.6°C (195°F) で10分。 メレンゲのセット：予熱して、176.7°C (350°F) のオープンで調理時間計15分。	
2.c.3	上記の2.c.2にリストした温度を超えて保管または陳列された場合、どのような可能性があるか？	NA. 本試験の目的は、微生物の低減を検証することである。	
2.c.4	準備、保管または陳列によって生じる恐れのあるハザードは他にもあるか？	いいえ。	
2.c.5	製造から消費までの予想最大期間は？	NA	
2.c.6	腐敗または受け入れ難い品質になるまでの期間は？	NA	
3	増殖または不活化に関する食品評価が必要かどうかを判断する		
3.a	pH と aw から考えて、増殖に関する食品評価が必要か？（付録Dの表AとBを参照。）はいの場合、4eと5.aにも答えよ。	NA	
3.b	不活化試験は必要か？はいの場合、4.fと5.bにも答えよ。	はい。	
3.c	死滅（不活化）またはTCS（増殖）に適用できる規制があるか？	2005年Food Codeに対する2007年補足版は、メレンゲに低温殺菌済みの卵白を使用するよう指定している。	
4	チャレンジ試験で検討する懸念される病原菌を決める		
4.a	表2と付録Cから、どの病原菌が懸念されるか？食品がシーフードでなければ、ビブリオ属は検討から外してよい。	付録Cから、卵製品に懸念される病原菌は、セレウス菌、サルモネラ、リステリア・モノサイトゲネスである。	
4.b	環境、食品、疫学的な経緯から考えて、発生する可能性が合理的に高いのはどの病原菌か？（付録Cも参照）	セレウス菌の芽胞は、加熱処置後も生存していると思われるが、メレンゲのAwを考えると、増殖しないと思われる。サルモネラはより蔓延しており、非低温殺菌の液体卵製品には、リステリア・モノサイトゲネスよりも多く存在する。サルモネラは、メレンゲパイ(72)等、加熱不足の卵成分を含む多くの食品との関連性が指摘されている。	本試験では、増殖ではなく、病原菌の生存が関心事項であるため、感染量の少ない病原菌を被験微生物として選択した。

4.c	どの病原菌が、不活化工程後に本食品を再汚染する可能性があるか？	NA	本試験の目的は、不活化の評価であり、再汚染の評価ではない。
4.d	標的食食品または関連食食品に、病原菌の蔓延を示唆するベースライン調査があるか？	卵と卵製品に関する FSIS (111) のリスク評価では、非低温殺菌の液体全卵製品におけるサルモネラ推定値は、複数の卵をプールした製品において、平均 0 および 100 セル/mL であった (FSIS リスク評価の図 3-45 を参照)。また、非低温殺菌の液体卵白製品における推定値は、複数の卵をプールした製品において、平均 10 セル未満/mL であった (FSIS リスク評価の図 3-44 を参照)。サルモネラの MPN は、非低温殺菌の液体全卵と液体卵白製品のどちらにおいても 1,000 CFU/mL を上回ることもあるが、これは稀と思われる。FSIS は、採取・分析したサンプル全てではないが、一部からサルモネラ・エンテリティディスを同定している。以上のことから、下記の不活化試験で示すサルモネラ・エンテリティディスの数値は、最悪のケースを表すものである。	不活化試験では、蔓延に関わる質よりも、量に関する数値 (公衆衛生を保護するのに必要な除去量を推測する手がかりとなるのが数値である) が重要である。
4.e	増殖抑制 (TCS) 試験について：	NA	
4.e.1	どの病原菌が最も速く増殖するか？グラム陽性 vs グラム陰性、栄養微生物 vs 芽胞形成菌を考えると、食品がシーフードでなければ、ビブリオ属は検討から外してよい。予測モデルを用いるか、適用可能な文献を引用せよ。必要に応じて、1.5 倍の消費期限で増殖の可能性を検討せよ。		
4.e.2	予測モデル		
4.e.3	文献と選択を比較せよ。		
4.e.4	増殖または生存に関する情報は、まだ他にも何かあるか？		
4.e.5	上記の分析から、増殖抑制試験に選ばれる被験微生物は何か？		

4.f	不活化試験の場合：		
4.f.1	どんな死滅の処置（HPP、熱、酸等）があるか？	加熱.	
4.f.2	死滅の処置（HPP、熱、酸等）に最も耐性のある微生物はどれか？	芽胞形成菌は最も熱耐性があるが、本食品では増殖できないことから、リスクとしては除外している。サルモネラ・エンテリティディスが最も適切な被験微生物である。	
4.f.3	病原菌が存在する可能性のある本食品の全域にわたって、菌は死滅するか？全表面と内部の汚染について説明せよ。	はい。	
4.f.4	組成において、不活化に影響するかもしれないものに何があるか？（ A_w 、水分、塩分、pH、脂質等の内因子が死滅や耐性に関与する可能性がある）	メレンゲは糖度が比較的高いので、 A_w が減り、熱耐性が高まる可能性がある。	
4.f.5	本食品中の病原菌量に関するデータは何かあるか？	4.d を参照。	
4.f.6	本食品のログ低減に、規制要件または方針があるか？要件を引用せよ。	いいえ。	
4.f.7	ログ低減に規制要件がない場合、受け入れ可能な低減を判断するのに、科学的根拠を用いよ（21, 76）。	最悪のケースとして2ログの低減を用い、2ログの安全マージンを組み込んで、目標は4ログ単位の低減である。	
4.f.8	上記の分析から、不活化試験に選ばれる被験微生物は何か？	サルモネラ・エンテリティディス。	
5	チャレンジ試験の適切な期間とサンプル採取時点を決める		
5.a	増殖抑制（TCS）試験の試験期間は、消費期限の1.25～1.5倍で検討せよ。	NA	
5.a.1	製造から消費までの最大期間		
5.a.2	腐敗または受け入れ難い品質になるまでの実際の期間		
5.a.3	増殖抑制試験では、微生物分析に適切なサンプル採取時点を決めること。サンプル採取時点は、5回～		

	7回が推奨される。採取時点が少なければ、正当な理由が必要である（類似食品の結果を使用等）。		
5.b	不活化試験では、工程や組成を考慮して、適切なサンプル採取時点を決めること。0時点と工程終了時には、密度を同定する。できる限り、中間でもサンプルを採取し、死滅曲線を判断する。	0時点および15分。	サンプル採取時点が4回以上あれば、調理工程をさらに定義するのに使えるD値を算出できるが、現行の試験デザインには含まれていない。
5.b.1	不活化の処置が不十分に終わる可能性がある場合、消費期限に微生物が回復・増殖するか、検討すること(21)。	NA	
6	接種、保管、試験手順を決める		
6.a	試験に用いる菌株を決める（各菌種につき複数株使用を推奨。適切な食品または臨床分離株の使用を検討すること）	卵または卵製品から分離したサルモネラ菌株を最低5つ混合し、大流行に関連する臨床または卵サンプルから分離したサルモネラ・エンテリティディス菌株を1つ以上含める。	
6.b	接種材料の調製に適応が必要かどうか？	本試験では必要ない。	
6.c	接種方法を決める（表面、混合、浸漬、液体、乾燥等）	濃縮、洗浄した接種材料を卵白に混ぜてから、泡立てメレンゲにする。完成したメレンゲの重さを測り、室温に冷ましておいた調理済みのレモンの詰め物の上に均一に広げる。未調理のメレンゲ完成品におけるサルモネラの濃度を、下記の通り測定する。	エアロゾルの可能性のため、卵白の泡立ては安全キャビネット内で行う。また、メレンゲを加える前に詰め物が常温まで冷まされていない場合も想定する。
6.d	接種量を決める（密度、log CFU/g、1包装当たりのCFU、接種材料の割合 [vol/wt または vol/vol] 等）	最終目標値は、最低4 log CFU/パイ。	
6.e	用いる包装を決める	NA	
6.f	増殖抑制試験での培養温度または加熱不活化試験での温度を決める		
6.g	サンプル採取方法とサンプルサイズを決める	サンプルサイズは、パイ1つに使う全メレンゲである。BAM法(7)を使って、全メレンゲにサルモネラを増菌する。また、0時点のパイ1つを使い、焼く前のメレンゲ内で回復した最初のサルモネラ数を測定	

		する。パイからメレンゲを取り、しっかり混合してから、10gのメレンゲを3サンプル取り出して、測定する。	
6.h	データの確実性を確保するのに、複製はいくつ必要か？一般分析または製造にばらつきが見られれば、反復試験を数回以上行うことは認められるか？複数組の類似組成を試験すべきか？組成を選択するのに統計デザイン（ブロック計画，中心複合等）は使用しているか？	反復試験は3回行う。各試験では、接種したバイクドパイ3個と0時点のバイクドしていないパイ1個を使うため、計12個のパイが本試験では必要になる。	
7	他の対照を決める		
7.a	サロゲートの使用は適切または必要か？そうであれば、正当化せよ。	サロゲートは適切ではない。	
7.b	腐敗や競合細菌叢の評価，または他の目的のために，未接種の対照が必要か？	NA	
7.c	他の対照に何が必要か？（増殖の陰性・陽性対照を含む）	ベーキングの間，オープンの数カ所で温度を検証する。	
8	判定基準を決める		
8.a	判定基準は何か？	176.7°C (350°F) のオープンで，15分以内に4ログ以上低減すること。	増菌したメレンゲにサルモネラが検出されないことに基づく。
8.b	本結果を利用するのに，限界は何か？	本試験の限界には，パイ上のメレンゲの量と深さがある。詰め物の温度が結果に影響することもある。データによれば，示すオープン温度で，長めの調理時間が必要であり，短めであってはならない。これらのデータは，他の詰め物の種類に適用できると思われる。	

^aNA：該当なし。

付録J. 食品チェックリスト：ベイクドチーズピザ

最大8時間冷蔵しないでおくベイクドチーズピザの評価			
	検討事項	回答	追加コメント
1	本試験の目的を決める		
1.a	安全のための時間・温度管理 (TCS) の適用除外 (冷蔵不要)	NA ^a	
1.b	規制要件の適用変更 (温度管理をせずに4時間を超えておく等)	ベイクドチーズ (スライス) ピザを最大8時間冷蔵しないで置いておくこと.	
1.c	死滅の検証	NA	別の施設 (中央の販売所 [central commissary]) で組み立て, 小売店で焼くまで冷蔵保管.
1.d	冷蔵食品または軽度の温度変動下において, 組成が微生物の増殖抑制になることを立証	NA	
2	本食品に関する情報を収集する		
2.a	食品の成分は何か?	ピザ生地: 小麦粉, 塩, ショートニング. チーズ: 低温殺菌牛乳, 塩, レンネット, スターター培養株. トマトソース: 缶詰トマトペースト, 水, オレガノ, バジル, ニンニク.	
2.a.1	各種の源やロット間において, 成分の一致度はどうか?	成分は同じ. ソースとチーズの構成成分は比較的一致するが, ピザの準備は, 成分の量の点でかなり異なる可能性がある.	
2.a.2	食品および・または各コンポーネントの pH, Aw, 一般分析 (水分, 塩分, 脂質, タンパク質, 残存亜硝酸塩等) はどうか?	一般分析: タンパク質 10%, 脂質 8%, 塩分 1%, 水分 46~49%. pH: ピザ生地は 6.8, ソースは 4.5, チーズは 5.4. Aw: ピザ生地は 0.70, ソースは 0.98, チーズは 0.95~0.96.	
2.a.3	これらの値は, 準備から消費までの間で変化するか?	いいえ.	

2.a.4	寸法 (カットやピース等) はどうか? (該当の場合)	NA	
2.a.5	製造開始時と完成時の一般的な微生物負荷 (種属等) はどうか?	微生物負荷: 焼いた後は 100 CFU/g 未満. 主に芽胞形成性の微生物が存在し, セレウス菌, ウエルシュ菌, ボツリヌス菌などが考えられる.	
2.a.6	汚染が各コンポーネントに取り込まれる, またはコンポーネントに広がる可能性があるか?	はい, 各コンポーネントに病原性の細菌胞子が含まれている可能性がある.	
2.b	加工調製工程はどうか?		
2.b.1	本食品は, 組み立て食品 (複数コンポーネントから成る食品) か?	はい. 薄いピザ生地にソースをぬり広げ, チーズの層でトッピングしている.	
2.b.2	検証済みの微生物低減工程があるか? 微生物低減工程に関連するパラメータは何か? コンポーネントが異なれば, 微生物低減工程も異なるか?	ピザを焼いた後には, それ以上の除去工程は行わない. ベーキングで, 栄養性の病原菌は全て除去されることが検証済みである.	
2.b.3	再汚染の可能性はあるか?	はい, ベーキング工程後, ピザを冷まし, 食品サービスの従業員が取り扱う際に, 再汚染の可能性はある.	ピザは表面積が大きいので, ベーキング後は急速に室温に冷めることが予想されるので, ウエルシュ菌の増殖は懸念されない.
2.b.4	死滅や増殖に影響するパラメータに, どんなばらつきが見られるか?	見た目の焼き加減の評価項目まで焼いた場合は, 死滅に影響するパラメータにばらつきはほとんど見られない.	
2.b.5	本食品はどのように包装されているか?	包装されていない. ピザを入れたトレイが販売所から食品サービス施設へと配送される.	
2.b.6	本食品は, 培養または発酵しているか? 意図的にスターター培養株を添加しているか?	いいえ.	
2.b.7	本食品には, 抗菌剤 (保存料) やその他, 香辛料等の抑制性の成分が含まれるか?	NaCl が含まれるが, 抑制する量ではない. 抗菌剤は添加していない.	
2.c	保管条件はどうか?		
2.c.1	本食品は, 販売用にどのように陳列されるか? 陳列するのに, 包装に変更があるか?	最大温度が 30°C (86°F) になる収納陳列棚に置かれる.	
2.c.2	製造, 準備, 保管または陳列の間, 予想される温度 (および時間) はどのくらいか?	焼いた製品が置かれる場合の温度のみだが, この場合, 小売店で最大 8 時間, 30°C (86°F).	