

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）
「国際的な動向を踏まえた乳及び乳製品の衛生管理及び試験法確立のための研究」
総合分担研究報告書（平成30年度）

乳および乳製品の衛生管理に関する国際動向に関する研究

研究分担者 窪田邦宏 国立医薬品食品衛生研究所安全情報部第二室長
研究協力者 天沼 宏 国立医薬品食品衛生研究所安全情報部第二室
田村 克 国立医薬品食品衛生研究所安全情報部第二室

研究要旨： 現在わが国の乳及び乳製品については、昭和 26 年に発令された「乳および乳製品の成分規格等に関する省令」に基づき、一般生菌数と大腸菌群を微生物規格としている。一方、EU や ICMSF では、HACCP による工程管理を前提として、腸内細菌科菌群や グルクロニダーゼ陽性大腸菌等を用い、サンプリングプランを設定した衛生管理を行っている。国内においても、近年、国際的な整合性を図る観点から、HACCP の義務化に向けた取組みが行われているが、衛生管理を行う上で、衛生指標に用いる微生物の妥当性やその試験法について国際的整合性を考慮する必要がある。本分担研究では、諸外国における乳製品による健康被害実態、食品汚染実態、定められた微生物規格基準とそのサンプリングプラン、試験法の運用実態等に関する情報収集を行った。また、今年度は、EU における製造工程での衛生管理の実態について、デンマークの低温殺菌牛乳工場等を視察し、情報を収集した。

A. 研究目的

現在わが国の乳及び乳製品においては、昭和 26 年に発令された「乳および乳製品の成分規格等に関する省令」に基づき、生菌数と大腸菌群を微生物規格としている。一方、EU（欧州連合）や ICMSF（国際食品微生物規格委員会）では、HACCP による工程管理を前提として、腸内細菌科菌群や グルクロニダーゼ陽性大腸菌等を用い、

サンプリングプランを設定した衛生管理を行っている。国内においても、近年、国際的な整合性を図る観点から、HACCP の義務化に向けた取組みが行われているが、衛生管理を行う上でも、衛生指標に用いる微生物の妥当性やその試験法について国際的整合性を考慮する必要がある。本分担研究では、諸外国における乳製品による健康被害実態、食品汚染実態、定められた微生物規格基準とそのサンプリングプラン、試験法の運用実態等に関する情報収集を目的と

した。また、今年度は、EUにおける製造工程での衛生管理の実態について情報収集を行うことを目的とした。

B. 研究方法

学術論文等や各種データベース等に報告されている、海外および国内における乳に起因する健康被害事例や、製造基準違反等に伴う乳の回収事例に関する情報収集を行った。学術論文はPubMedデータベースにおいて「pasteurized、milk、outbreak」等のキーワードを用いて殺菌乳に関連のある最近のアウトブレイク等の健康被害事例の検索を行なった。製品回収情報データベースとして米国FDAの回収情報データベース(<https://www.fda.gov/safety/recalls/>)、食品汚染データベースとしてEUの「食品および飼料に関する早期警告システム(RASFF: Rapid Alert System for Food and Feed)」において殺菌乳の回収情報や汚染情報がないかを「pasteurized、UHT、milk」等のキーワードを使用して検索した。さらにデンマークの食品衛生を担当する行政機関、乳製品の指導等を行う業界団体、低温殺菌牛乳工場を視察し、製品・製造施設の衛生実態を調査するとともに、工場の検査担当者やデンマークの行政担当者、研究者等と議論することで、製造基準、関連する検査法、サンプリングプラン、実際の検査の詳細、リスク評価等に関する情報収集を行った。

C. 研究結果

I. PubMed 検索による殺菌乳関連の健康被害事例

PubMedデータベースに含まれる学術論文のうち殺菌乳との関連が確認された食中毒アウトブレイク事例報告は14件であった。これら14件のアウトブレイクは1937~2016年に発生したもので、2000年以降発生の事例としては5件報告されていた。これらは2015~2016年にカナダで発生した殺菌済チョコレートミルク製品によるリステリアアウトブレイク(患者34人)、2007年に米国で発生した乳生産農家での殺菌乳に関連したリステリアアウトブレイク(患者5名、大人3人死亡、流産1人)、2007年にオーストリアで発生した幼稚園児40人が腹痛や嘔吐を呈した黄色ブドウ球菌アウトブレイク、2006年に米国の刑務所で発生した殺菌乳(更生施設牧場および工場で生産・加工した乳を各刑務所に配布)に起因する大規模カンピロバクターアウトブレイク(患者1,644人)、2000年に米国で発生したサルモネラ(*Salmonella* Typhimurium)アウトブレイク(患者93人以上)である。いずれも乳の殺菌作業後に環境等からの汚染が起きている事例であった。殺菌乳の喫飲に起因する食中毒アウトブレイクは2017年以降に発生したものは確認できなかった。

近年に乳および乳製品に関連して報告されたアウトブレイク事例のほとんどは未殺菌乳の喫飲に起因するものであった。

II. 米国FDA回収情報データベースおよびEU RASFFデータベースを用いた殺菌乳の回収・汚染情報の探索

米国 FDA 回収情報データベースには殺菌乳の微生物汚染による回収は報告されていなかった。RASFF データベースは全食品を対象としており、1979～2018年の通知件数は53,928件であったが、殺菌乳（Pasteurized milk もしくは UHT milk）の微生物汚染事例は12件のみであった（2004～2018年、表1）。そのうち、実際に健康被害が報告された事例は2018年11月にスロバキア産殺菌乳に起因してハンガリーとスロバキアでアウトブレイクが発生した1件だけであった。発生してまだ時間が経っていないためと考えられるが、当該事例の調査結果報告等は発見できず、本アウトブレイクの全体像の詳細は不明である。

III. デンマークにおける乳の規格基準およびデンマークの乳・乳製品工場における運用実態

EU 各国における乳の規格基準および乳・乳製品工場における運用実態を把握するため、デンマークの基準および運用実態の調査を行なった。2018年11月26～29日にデンマーク獣医食品局（DVFA）、デンマーク農業食品評議会（DFAC: SEGES）、デンマーク工科大学国立食品研究所（DTU Food）、デンマークで85%のシェアを持ちEU各国にも工場を持つ乳製造会社の乳・乳製品加工工場を訪問し、各専門家との議論および工場視察を行なった。

1. デンマークにおける殺菌乳に起因する製品回収および健康被害事例について

デンマークの食品安全に関わる複数の専門家や工場の検査担当者との情報交換や議論の結果、乳および乳製品に起因する製品回収情報および健康被害事例は全て未殺菌乳によるものであり、殺菌乳によるものは直近10年では記憶にないとのことであった。これは上述の学術論文・データベース調査の結果とも一致していることから、殺菌乳による食中毒事例はほとんど発生していないと考えられた。

2. デンマークの殺菌乳に関する各種基準等について

デンマークにおける殺菌乳および殺菌乳製品の衛生基準は基本的にEU規則に沿ったものであり、腸内細菌科菌群について $n=5$, $c=0$, $m < 10\text{cfu/ml}$, $M < 10\text{cfu/ml}$ としている（資料1、項目2.2.1）。

デンマーク農業食品評議会は同会発行しているガイドンス（Danish Dairy Sector Guide、2018年に更新）で乳および乳製品に関してリスクが大きいものを記述しており、乳に関してはセレウス菌やカンピロバクターを指定して指導している（資料2）。

実際の検査法等に関してはEUの基準をもとに、各社が自主基準を設け、DVFAやDFACといった指導機関や業界団体等がHACCPプランをはじめとする指導や定期的な監査を行うことで問題を検知し改善するシステムとなっている（資料3）。

原乳の出荷時の検査は出荷元の各農場が責任を負っており、原乳受け入れ時の検査、乳製品の出荷時の検査等は製造業者がより厳しい基準に従っている（資料4）。

原乳はデンマークの国内基準では2日毎に乳生産農家から収集する場合には6以下での保存、毎日収集する場合には8以下での保存が求められているが、デンマークの乳製品業界の自主基準ではそれぞれさらに2以下、2日毎に乳生産農家から収集する場合には4以下での保存、毎日収集する場合には6以下での保存という温度管理を行なっている。原乳受け入れ時には性状（官能検査）と温度（10以下）を確認し、受領後6以下での保存を行なっている。最終製品の官能検査は製造直後および製品の賞味期限日（Best before date）に行なっている。乳製品業界では殺菌前の総菌数（Cell count）が300,000cfu/g以下となるよう管理している（資料4）。各種検査にはMoving Windowを用いた継続した検査を行なっている。乳製品業界で一般的に推奨される検査法は基本的にISO法に従っている（資料5）。各社ではさらに迅速検査法等も用いて、より厳しい基準の検査を行なっている。

牛乳の殺菌条件に関してはデンマークの規格基準では72 15秒であるが、視察した会社では74 15秒の自社基準で行なっていた。

これらの検査の実態把握や操業開始時のHACCPプランを始めとする衛生管理指導を担当しているDFAC (SEGES)は、操業開始時とその後3年に1度、衛生管理等に問題がないかの検査を行なっている。3年が来る前に衛生基準が満たされていないことが判明した場合にはそれより前に検査を行うとしている。

3. デンマークの乳製品工場における運

用実態について

工場を視察した乳製品製造会社はデンマークの乳・乳製品の約85%のシェアを持っており、スーパーマーケット等でも製品をよく見かける。また他社ブランドの生産も請け負っているため、他社ブランドの製品と誤っていても当該会社の工場で製造されたものである場合が多い。当該会社は現在デンマーク国内に3カ所の大規模な乳製造施設を所有しており、今回視察を行なった施設はその中で最も大きい1887年に開業した工場である。

乳製造工場部分は2004年に施設が更新されており、建物等は古い部分があるものの設備は新しいものであった。乳および乳製品の年間出荷量は約1億3千万リットルで、乳加工部門の従業員数は40人であった。当工場にはユトランド半島全域の120農家から原乳が出荷されており、原乳収集を行う120人のトラック運転手が工場への受け入れ前の官能検査も担当している。さらに受け入れ後には工場の検査員が再度各種検査を行なっている。原乳受け入れは夕方から夜に行い、夜中に操業し、早朝に出荷して朝7時頃には製品が店舗に並ぶことで「農家から原乳を収集してから24時間以内に消費者の元へ」というコンセプトのブランドで多くの乳製品の製造を行なっている。

牛乳の殺菌条件はデンマーク規格基準では72 15秒であるが、視察を行なった会社では自社基準である74 15秒で行なっている。加熱殺菌部（機材）の消毒は90 45分で行い、加熱できない容器充填部の機材は塩素により行なっているとのことであ

る。消毒が効果的に行われたことの確認（バリデーション）は、次回生産初期ロットの製品検査により行なっているとのことである。また、製品の加速試験も行なっており、17 24 時間負荷後の 21 培養生菌数、17 24 時間負荷後の大腸菌数等を計測している。また検査法として ISO 法とそれに準じる自社手法に加え、迅速検査法も用いて行なっている。

上述した EU 規則で実施が要求されている低温殺菌乳の衛生基準（腸内細菌科菌群について $n=5$, $c=0$, $m<10\text{cfu/ml}$, $M<10\text{cfu/ml}$ 、資料 1、項目 2.2.1）にもとづく乳の最終製品における腸内細菌科菌群の検査は 1 年に 4 回おこなっており、検査は製品の賞味期限日（Best before date）に行なっている。また毎日生産直後の製品と賞味期限日の製品から無作為サンプリング検査も行なっている。さらに顧客から依頼があれば追加の微生物検査を行うこともあるとのことであった。

D. 考察

諸外国における殺菌乳の健康被害事例に関して近年の発生報告が少ないことは、殺菌乳の製造における HACCP プランや殺菌法や検査法、施設の衛生管理が効果をあげていることを示唆している。報告されている殺菌乳のアウトブレイク事例は殺菌後の汚染がほとんどで、工場の設備環境が大きく影響しているか、加熱工程での設備トラブル等が疑われる事例であった。一方で未殺菌乳の喫飲に起因するアウトブレイク事例は、各国で数多く報告されている。米国や EU の回収汚染情報データベースに殺菌

乳の微生物汚染に関連した情報がほとんど報告されていないことから、各国において殺菌乳の製造工程は適切に管理されていると示唆される。

規格基準に関しては、デンマークの国内基準は EU 規則に沿って設定されている。また微生物検査や温度管理等は各社でデンマーク国内基準より厳しい基準を自主的に設定して衛生管理を行なっている。長いこと殺菌乳に起因するアウトブレイクや製品回収の記憶はないと行政関係者、業界関係者、研究者、工場の検査員のすべてが答えることから、デンマークの乳に関連する各種衛生対策は効果的であると考えられる。

視察したデンマークの乳・乳製品製造工場では、EU 規則で要求される乳の最終製品における腸内細菌科菌群の検査は 1 年に 4 回で、製品の賞味期限日に行なっている。これが他の EU 諸国においても一般的なのか、また衛生対策等が同様のものであるかの検討が必要であり、次年度以降の課題である。

E. 結論

殺菌乳に起因する食中毒アウトブレイクの発生件数は世界的に少ないことが確認された。乳に関連して起きている食中毒アウトブレイクは多くが未殺菌乳によるものであることが示唆された。同様に殺菌乳の微生物汚染も多くは発生していないことが確認された。

デンマークでは HACCP にもとづき、乳製造工場における衛生管理が適切に行われており、自社や業界団体、行政機関による指導も効果的に行われていることが確認さ

れた。EU 加盟国であることから EU 規則にもとづいた国内基準を設定しているが、さらにそれを上回る自社基準を設定してより安全性を担保している。検査法や検査の頻度に関しても EU 規則を遵守し、ISO 法や迅速検査法を活用しつつ、その頻度に関しては腸内細菌科菌群の検査が1年に4回という現実的な頻度でそれに対応している。

今年度はデンマークにおける乳の衛生管理が研究目的の一部であったが、他の EU 加盟国での対応についても EU 規則の適用に違いがないかを検討する予定である。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表 1 : RASFF に登録された殺菌乳の微生物汚染に関連した通知 (12 件、1979 ~ 2018 年)

product category	date	reference	product type	notification type	notification basis	notified by	countries concerned	subject	action taken	distribution status	risk decision
milk and milk products	26/11/2018	2018.3416	food	information for follow-up	food poisoning	Hungary	Hungary (D), Slovakia (O)	microbiological contamination ($1,2 \times 10^7$; $1,8 \times 10^7$; $>3 \times 10^7$ CFU/ml) of UHT milk from Slovakia	withdrawal from the market	distribution restricted to notifying country	serious
milk and milk products	20/10/2017	2017.1712	food	information for attention	official control on the market	Croatia	Bosnia and Herzegovina (O), Croatia (D)	Clostridium (1 CFU/ml) in UHT milk from Bosnia and Herzegovina	recall from consumers	distribution restricted to notifying country	undecided
milk and milk products	03/08/2017	2017.1152	food	alert	consumer complaint	France	Belgium (D), Cameroon (D), France (D/O), Luxembourg (D)	UHT semi-skimmed milk from France infested with moulds	recall from consumers	distribution to other member countries	undecided
milk and milk products	16/02/2017	2017.0204	food	information for attention	company's own check	Germany	Germany (D/O)	Bacillus cereus ($1,3 \times 10^3$ CFU/ml) and Bacillus cereus diarrheal enterotoxin (NHE) in UHT whole milk from Germany	public warning – press release	distribution restricted to notifying country	serious
milk and milk products	07/06/2013	2013.0797	food	information for follow-up	official control on the market	Italy	Hungary (O), Italy (D)	high count of Enterobacteriaceae (100 CFU/ml) in pasteurized milk from Hungary		no distribution from notifying country	not serious
milk and milk products	01/04/2011	2011.0439	food	information for follow-up	company's own check	Germany	Commission Services, Germany (D/O), Netherlands (D)	high aerobic plate count for UHT milk from Germany	withdrawal from the market	distribution to other member countries	undecided
milk and milk products	04/07/2007	2007.BQU	food	upgraded	border control – consignment released	Greece	Bulgaria (D), Greece, Republic of North Macedonia (O)	aerobic plate count (166×10^4 /ml) too high for pasteurized milk from the Former Yugoslav Republic of Macedonia		no distribution	undecided
milk and milk products	12/07/2007	2007.0469	food	alert	border control – consignment released	Greece	Bulgaria (D), Greece, Republic of North Macedonia (O)	aerobic plate count (166×10^4 /ml) too high for pasteurized milk from the Former Yugoslav Republic of Macedonia	destination of the product identified	distribution on the market (possible)	undecided
milk and milk products	03/10/2006	2006.0677	food	alert	consumer complaint	United Kingdom	Belgium (O), United Kingdom	Bacillus cereus ($> 3 \times 10^3$ CFU/ml) in UHT semi-skimmed milk from Belgium	product recall or withdrawal	distribution on the market (possible)	undecided
milk and milk products	22/09/2005	2005.665	Food	alert	company's own check	United Kingdom	Belgium (O), United Kingdom	Bacillus cereus (up to 3×10^4 CFU/ml) in UHT semi-skimmed milk from Belgium	product recall or withdrawal	distribution on the market (possible)	undecided
milk and milk products	18/05/2005	2005.BJE	Food	information	official control on the market	Italy	France (O), Italy (D)	too high count of aerobic mesophiles (3.800.000 CFU/ml) in pasteurized milk in tank from France	physical treatment – heat treatment	distribution restricted to notifying country	undecided
milk and milk products	24/09/2004	2004.473	Food	alert	official control on the market	Italy	France (O), Italy (D)	too high count of aerobic mesophiles (1800000 CFU/g) in pasteurized milk in container	no action taken	distribution on the market (possible)	undecided

資料 1 : EU の殺菌乳および乳製品に対する微生物基準 (2.2.1 部分、EU 規則 2073/2005 より)

▼ M1

2.2 Milk and dairy products

Food category	Micro-organisms	Sampling plan (1)		Limits (2)		Analytical reference method (3)	Stage where the criterion applies	Action in case of unsatisfactory results
		n	c	m	M			
▼ M2 2.2.1 Pasteurised milk and other pasteurised liquid dairy products (4)	Enterobacteriaceae	5	0	10 cfu/ml		ISO 21528-2	End of the manufacturing process	Check on the efficiency of heat-treatment and prevention of recontamination as well as the quality of raw materials
▼ M1 2.2.2 Cheeses made from milk or whey that has undergone heat treatment	<i>E. coli</i> (5)	5	2	100 cfu/g	1 000 cfu/g	ISO 16649-1 or 2	At the time during the manufacturing process when the <i>E. coli</i> count is expected to be highest (6)	Improvements in production hygiene and selection of raw materials
2.2.3 Cheeses made from raw milk	Coagulase-positive staphylococci	5	2	10 ⁴ cfu/g	10 ⁵ cfu/g	EN/ISO 6888-2	At the time during the manufacturing process when the number of staphylococci is expected to be highest	Improvements in production hygiene and selection of raw materials. If values > 10 ⁵ cfu/g are detected, the cheese batch has to be tested for staphylococcal enterotoxins.
2.2.4 Cheeses made from milk that has undergone a lower heat treatment than pasteurisation (7) and ripened cheeses made from milk or whey that has undergone pasteurisation or a stronger heat treatment (7)	Coagulase-positive staphylococci	5	2	100 cfu/g	1 000 cfu/g	EN/ISO 6888-1 or 2		
2.2.5 Unripened soft cheeses (fresh cheeses) made from milk or whey that has undergone pasteurisation or a stronger heat treatment (7)	Coagulase-positive staphylococci	5	2	10 cfu/g	100 cfu/g	EN/ISO 6888-1 or 2	End of the manufacturing process	Improvements in production hygiene. If values > 10 ⁵ cfu/g are detected, the cheese batch has to be tested for staphylococcal enterotoxins.

02005R2073 — EN — 01.01.2018 — 007.001 — 20

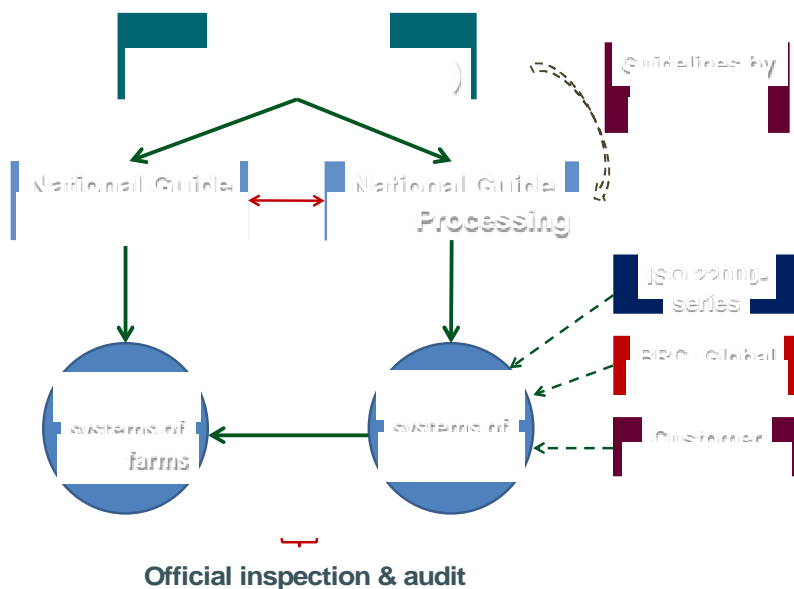
資料 2 : 乳および乳製品関連の重要なハザード (デンマーク乳業業界ガイドより)

Overview of significant hazards – Danish Dairy Sector Guide

Product type	Non-fermented liquid milks	Fermented milks, etc.	Butter & yellow fat blends ≥80% fat	Butter & yellow fat blends <80% fat	Cottage cheese and smoked fresh cheese	Cream cheese, etc.	Mozzarella & pizzalopping	Yellow cheese, etc.	Soft white moulded cheese	Blue-veined cheese	White cheese in brine	Processed cheese	Milk powder	Infant formula
Source	Antibiotics				VTEC L. monocytogenes Salmonella S. aureus				F&M disease virus					
Raw milk	B. cereus Campylobacter spp.											B. cereus	B. cereus	B. cereus Cronobacter
Cheese as raw material												Metal fragments Hard plastic VTEC L. monocytogenes Salmonella S. aureus Undesired mould Cheese mites		
Cheese coating												Natamycin		
Dry ingredients (e.g. spices, gelatine, lecithine, starch)	B. cereus Salmonella C. perfringens	B. cereus Salmonella C. perfringens	B. cereus Salmonella C. perfringens		B. cereus Salmonella C. perfringens Benzoates	B. cereus Salmonella C. perfringens Benzoates Preservatives	B. cereus Salmonella C. perfringens Benzoates Preservatives	B. cereus Salmonella C. perfringens Benzoates Preservatives	B. cereus Salmonella C. perfringens Benzoates		B. cereus Salmonella C. perfringens Benzoates	B. cereus Cl. Perfringens Salmonella Benzoates Preservatives	B. cereus Cronobacter Salmonella	B. cereus Cl. Perfringens Cronobacter Salmonella Benzoates
Wet Ingredients	L. monocytogenes	L. monocytogenes	L. monocytogenes		L. monocytogenes			L. monocytogenes	L. monocytogenes		L. monocytogenes	L. monocytogenes	L. monocytogenes	L. monocytogenes
Egg products	Salmonella Benzoates	Salmonella Benzoates										Salmonella		Salmonella
Raw mushrooms						Phenylhydrazines						Phenylhydrazines		
Not boiled, frozen fruits and vegetables originating from non-scandinavian countries		Norovirus and hepatitis A			Norovirus og hepatitis A	Norovirus og hepatitis A			Norovirus og hepatitis A			Norovirus og hepatitis A		
Products of fruit and berry	Mould	Mould			Mould	Mould						Mould		
Smoke					PAH Dioxin	PAH Dioxin		PAH Dioxin	PAH Dioxin					
Packaging material											Foreign matter			

資料3：デンマークの乳製品関連の衛生管理システム

FOOD SAFETY FRAMEWORK



資料4：デンマークの乳の検査基準(国の法定要求水準と一般的な乳製造会社の自社基準)

Parameter	Legal requirement		Typical dairy company	
	Criteria	Frequency	Criteria*	Frequency
TPC	<100 000 cfu/g (log mean - 2 months)	Every 2 weeks	Target: 60,000 (log mean - 1 month) (Bonus & penalty below/above 60,000)	3-5 per month
Cell count	<400 000 cfu/g (log mean - 3 months)	Every 4 week	Target: 300,000 (log mean - 1 month) (Bonus & penalty below/above 300,000)	Every collection (Bonus & penalty below/above 300,000)
Antibiotics	<MRLs	Every 4 weeks	Not detectable	5 per months (increasing penalties: 1: +125% 2: +150% + 400 € 3: +200 + 400 € + visit)
Urea	Not required		Company specific	Every collection
Freezing point	Not required		- 0,515 °C to - 0,545 °C.	Every collection
Sensoric	Normal		No remarks	Every truck load
Anaerobic spores	Not required		Company specific	Company specific

資料5：デンマークの乳製品製造業界で一般的に使用されている検査法や基準等の例

<i>Microorganism</i>	<i>Reference method</i>	<i>Other validated methods</i>
Sampling of surfaces	ISO 18593 - Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal methods for sampling techniques from surfaces using contact plates and swabs	
Preparation of microbiological samples	<p>ISO 6887 - Microbiology of the food chain -- Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination</p> <p>Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions</p> <p>Part 4: Specific rules for the preparation of miscellaneous products</p> <p>Part 5: Specific rules for the preparation of milk and milk products</p> <p>Part 6: Specific rules for the preparation of samples taken at the primary production stage</p>	
<i>Listeria monocytogenes</i>	ISO/CEN-standard 11290 ¹	

¹ Testing against the criterion "100 cfu/g" ISO 11290-2 is applied and 1 ml incubate is spread on one petri dish (140 mm in diameter) or on 3 petri dishes (90 mm in diameter). As regards tests against the "none in 25g"- criterion, ISO 11290-1 is applied.

Microorganism	Reference method	Other validated methods
<i>Salmonella</i>	<p>ISO/CEN standard 6579-1 - Microbiology of the food chain - Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of Salmonella - Part 1: Horizontal method for the detection of Salmonella spp.</p>	<p>ISO 6785/IDF 93 - Milk and milk products - Detection of Salmonella spp</p>
<i>Cronobacter spp.</i> (former <i>Enterobacter sakazakii</i>)	<p>ISO/TS standard 22964</p>	
<i>S. aureus</i> enterotoxin	<p>European screening method for the detection of staphylococcal enterotoxins in milk and milk products</p>	<p><i>Hennekinne et al. ,2003</i></p>
Coagulase positive staphylococci (<i>S. aureus</i>)	<p>ISO 6888 - Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (<i>Staphylococcus aureus</i> and other species)</p> <ul style="list-style-type: none"> • ISO 6888-1 - Part 1: Technique using Baird-Parker agar medium • ISO 6888-2 - Part 2: Technique using rabbit plasma fibrinogen agar medium 	<p>ISO 8870/IDF 83 - Milk and milk-based products - Detection of thermonuclease produced by coagulase-positive staphylococci</p>

Microorganism	Reference method	Other validated methods
	Raw milk cheese, however, 6888-2	
<i>E. coli</i>	<p>ISO 16649 - Microbiology of the food chain - Horizontal method for the enumeration of beta-glucuronidase-positive <i>Escherichia coli</i>.</p> <ul style="list-style-type: none"> • ISO 16649-1 - Part 1: Colony-count technique at 44 degrees C using membranes and 5-bromo-4-chloro-3-indolyl beta-D-glucuronide • ISO 16649-2 - Part 2: Colony-count technique at 44 degrees C using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl beta-D-glucuronide 	<p>ISO 11866 IDF 170 - Milk and milk products - Enumeration of presumptive <i>Escherichia coli</i>.</p> <ul style="list-style-type: none"> • ISO 11866-1 IDF 170 - Part 1: Most probable number technique using 4-methylumbelliferyl-beta-D-glucuronide (MUG) • ISO 11866-2 IDF 170 - Part 2: Colony-count technique at 44 degrees C using membranes • RAPID'E.coli 2 • 3M™ Petrifilm™ <i>E. coli</i>/Coliform Count Plate
<i>VTEC</i>		<p>ISO 13136 - Microbiology of food and animal feed - Real-time polymerase chain reaction (PCR)-based method for the detection of food-borne pathogens - Horizontal method for the detection of Shiga toxin-producing <i>Escherichia coli</i> (STEC) and the determination of O157, O111, O26, O103 and O145 serogroups</p>
<i>Enterobacteriaceae</i>	<p>ISO 21528 - Microbiology of the food chain - Horizontal methods for the detection and enumeration of <i>Enterobacteriaceae</i>.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Dried infant formulae and dried dietary foods for special 	<p>Petriefilm: 3M product instruction 34-8704-9515-6 (2010)</p>

Microorganism	Reference method	Other validated methods
	<p>medical purposes intended for infants below six months of age as well as pasteurized liquid milk products: ISO 21528-1 - Part 1: Detection of Enterobacteriaceae is to be applied</p> <ul style="list-style-type: none"> • Milk powders and whey powders, ice cream and frozen deserts: ISO 21528-2 - Part 2: Colony-count method is to be applied 	
(Presumptive) <i>Bacillus cereus</i>	<p>ISO 7932 - Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of presumptive <i>Bacillus cereus</i> - Colony-count technique at 30 degrees C, plated on a Petri dish of 140 mm diameter or on three Petri dishes of 90 mm diameter</p>	
Total plate count	<p>ISO 4833 - Microbiology of the food chain - Horizontal method for the enumeration of microorganisms</p> <ul style="list-style-type: none"> • ISO 4833-1 - Part 1: Colony count at 30 degrees C by the pour plate technique • ISO 4833-2 - Part 2: Colony count at 30 degrees C by the surface plating technique 	<p>Petrefilm: 3M product instruction 38-9018-7128-5 (2007)</p>
Coliforms	<p>ISO 4832:2006 - Microbiology of food and animal feeding stuffs -</p>	<p>ISO 4832 - Microbiology of food and</p>

<i>Microorganism</i>	<i>Reference method</i>	<i>Other validated methods</i>
	Horizontal method for the enumeration of coliforms - Colony-count technique	animal feedingstuffs — Horizontal method for the enumeration of coliforms — Colony-count technique ISO 4831 - Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the detection and enumeration of coliforms -- Most probable number technique RAPID'E.coli 2 3M™ Petrifilm™ E. coli/Coliform Count Plate3M product instruction 34-8705-6227-8 (2011)
Yeasts and mould	ISO 6611/IDF 94 - Milk and milk products - Enumeration of colony-forming units of yeasts and/or moulds - Colony-count technique at 25 degrees C	3M product instruction 38-9017-8602-0 (2010)
Psychotropic plate count	ISO 8552/IDF 132 - Milk - Estimation of psychotropic microorganisms - Colony-count technique at 21 degrees C (Rapid method)	Petrifilm: 3M product instruction 38-9018-7128-5 (2007)
Total plate count in water (22° and 36°C)	ISO 6222 - Water quality - Enumeration of culturable micro-organisms - Colony count by inoculation in a nutrient agar culture medium at 22°C and 36°C	Petrifilm: 3M product instruction 2010-11