

微生物規格基準設定の国際動向



国立保健医療科学院 国際協力研究部
上席主任研究官 豊福 肇

1. はじめに

微生物規格の設定及び運用はリスク管理措置の1つである。現在の国際社会において、食品安全リスク管理、リスク評価について従わなければならない原則がいくつかある。

1) WTO（世界貿易機関）のSPS協定（衛生植物検疫措置に関する協定）

1996年に採択されたWTO（世界貿易機関）のSPS協定（衛生植物検疫措置に関する協定）である。食品安全に関わる施策を新たに実行しようとするときは、国際的にオーソライズされた機関によって開発された手法に基づきリスク評価を行わなければならないとされている。食品安全に関し、“国際的にオーソライズされた機関”はコーデックス委員会であるので、同委員会が示す微生物リスク評価のガイドラインに従ってリスク評価を行わなければならない。

2) コーデックスのガイドライン

コーデックス委員会では、1997年に微生物規格（Microbiological Criterion: MC）に関する一般原則、2007年には微生物学的リスク管理の原則及びそのための「数的指標（Metrics）」の導入という附属文書を示している。特に、同附属文書には、微生物学的リスク管理のための新たな「数的指標（Metrics）」であるFood Safety Objective（FSO）及びPerformance Objective（PO）の考え方を示している。

2. 食品の微生物規格の設定及び適用のための原則

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

現行の原則は、食品製品あるいはあるロットの合否を規定するもので、特定のサンプリングプラン（sampling plan: 以下「SP」という。）の使用条件下で認められる、定められた試験法による微生物濃度または汚染頻度を示すものである。法に基づく強制的MCは、他に効果的なツールがなく、消費者に提供する製品の安全性の程度を改善することが期待される製品のフードチェーンの特定のポイントで適用すべきとされている。

なお、現在Codexの食品衛生部会において、本文書の改訂作業が行われている。

SPで考慮される要素としては次のようなものがある。

- 微生物（毒素）
- SP（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（検出または定量）法
- フードチェーンにおいてMCが適用される箇所
- 対象食品
- MCに適合しない場合にとられる措置

通常、食品微生物分野で用いられているSPはattributable SPであり、次の2種類がある。

1) 二階級法 (Class 2) アトリビュータブル (attributable) サンプルングプラン

nとc、mで決まるSPで、nは1ロットからランダムに取り出される検体の個数、cはロットを合格と判定するのに許される不良検体の個数（nのうち、mを超えてもよい検体数）、mは1検体に許容される最大の微生物濃度（基準値）を示し、mで規定された濃度よりも高濃度に汚染された検体は不良検体と考えられる。通常、cが一定の場合nが大きくなれば、SPは厳しくなり、同様にnが一定の場合、cが減少すれば、厳しさは増す。

表1はCodexの乳児用調製粉乳の病原体に関する微生物規格で、二階級法の例である。この場合、対象となる微生物は*Enterobacter sakazakii*と*Salmonella*で、それぞれそのMCは n=30、c=0、m=0/10gとn=60、c=0、m=0/25gである。

表2はCodexのそのまま喫食出来る食品 (ready-to eat) 食品中の*Listeria monocytogenes*微生物規格である。この例で、菌の対数正規分布における標準偏差0.8とした場合、95%の信頼性で排除されるロットの幾何平均濃度はLmが増殖しないRTE食品で79.4cfu/g、Lmが増殖するRTE食品では0.0182 cfu/g=1cfu/55gとなる。標準偏差0.5とした場合、Lmが増殖しないRTE食品では同様に87 cfu/g、Lmが増殖するRTE食品では0.020

cfu/g=1cfu/50gとなる。標準偏差0.25とした場合Lmが増殖しないRTE食品では同様に93 cfu/g、Lmが増殖するRTE食品では0.023 cfu/g=1cfu/44gとなる。

2) 3クラス attributes サンプルングプラン

n, c, mに加えMで定義され、サンプル内の微生物の濃度によって、製品の品質を次の3つのattribute クラスに分類することができる状況に適用させることができる。

- 許容できない品質：微生物の濃度がMを超える（サンプル中のどの検体も超えてはならない）
- 優良品質：微生物の濃度がmを超えてはならない
- marginally acceptable quality（辛うじて許容できる品質）：mを超えるがMを超えない検体がc個未満のとき（mを超えるがMを超えない状態は望ましくはないが、数が限られていれば許容できうる）

Mは許容でき、GHPに従って製造していれば達成できる微生物の濃度である。

3クラスプランでは、mはゼロ以外の数値である。Mは危険性がある、または貧弱な衛生管理を原因とした許容できないレベルの汚染濃度と考えられる。

■表1 Codexの乳児用調製粉乳の病原体に関する微生物規格

Microorganisms	n	c	m	Class Plan
<i>Enterobacter sakazakii</i> (<i>Cronobacter</i> species)*	30	0	0 / 10 g	2
<i>Salmonella</i> **	60	0	0 / 25 g	2

■表2 CodexのRTE食品中の*Listeria monocytogenes*微生物規格

製品	微生物	n	c	m	検査法
Lmが増殖しないRTE食品	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100	ISO11290-2
Lmが増殖するRTE食品	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	0	ISO1129-1

■表3 Codexの乳児用調製粉乳の工程の衛生管理の規格

Microorganisms	n	c	m	M	Class Plan
Mesophilic Aerobic Bacteria*	5	2	500 / g	5000 / g	3
Enterobacteriaceae**	10	2 ²²	0 / 10 g	Not applicable	2

表3に示したCodexの乳児用調製粉乳の工程の衛生管理の規格のうち、中温性好気性菌 (Mesophilic Aerobic Bacteria) の規格がこれに該当する。

3. 微生物リスク管理を行う原則及びガイドライン及び微生物リスク管理メトリックスに関するガイダンスに関する附属文書

Principles and Guidelines for the Conduct of Microbiological Risk Management and its annex on Guidance on Microbiological Risk Management Metrics (CAC/GL 63- 2007)

定量的リスクベースの微生物ターゲットや数値目標を設定するメリットは、それらを公衆衛生上のアウトカム（患者数）に結び付け、管理措置、ALOP (Appropriate of Level of Protection)、公衆衛生の目標の関係を説明できることである。

ALOPは公衆衛生上の目標値であり、通常疾患に罹患する確率、年間患者数といった数値で表現されるが、これらの数値は食品中の規制値や監視対象値とは直接結びつかない。従って食品の検査による検証には不向きであり、また営業者がHACCPを実施する際も、公衆衛生上の目標と結びつけることは困難である。そこで登場したのがFSO (Food Safety Objectives：摂食時安全目標値) の概念であり、公衆衛生上の概念であるALOPを微生物学的に測定あるいは制御可能な単位へ変換するための“橋渡し”の概念として機能する。“橋渡し”をするためには、食べる時点での菌数、汚染率を考慮することが必要となる。

ALOPは人口10万人当たりの患者数、喫食当た

りの患者発生確率というような単位であらわされるため、これをコントロールのきびしさの程度としてわかりやすいように、用量反応曲線等を用いて、食品中の病原体の濃度または汚染率に変換する必要がある。また、この時、患者が発生する確率は喫食時の菌数濃度で決まってくるため、FSO (Food Safety Objective:喫食時安全目標) は喫食時点の菌数濃度でなければならない。ところが、この喫食時点で管理（例えば検査）を行うことは現実的には難しい。そこで、フードチェーン上の川上のある地点で、FSOを達成できるPO (Performance Objective：達成目標) を設定する (図1参照)。POはフードチェーン上の複数の地点で設定することも可能である。ALOP、FSOは政府が設定し、POはFSOを基に政府または食品事業者が設定する。POを達成していることを確認する手段としてMCを設定することや、POを満たす手段として、何Logを減少させるといったPerformance Criteria (達成基準) を政府又は事業者が設定する。FSOとPOはリスク評価、特に暴露評価や予測微生物モデルを用いて関連づけられる。もしある工程のPO設定点から喫食までの間で増殖または二次汚染が予測されるのであれば、PO<FSOとなるし、増殖も二次汚染も考えられないのであればPO=FSOとなる。

POが設定された場合、その遵守状況を確認するため、MCを設定することができる。POとMCは異なる。POは目標値なので、通常SPは示されないが、MCはCodexのガイドラインに準拠したSPの要素が必要となる。

MCを設定するために、まず最初に行う作業はロット内の微生物分布を知ること、または仮定することである。通常、ロット内の微生物は横軸にグラム当たりの菌数をlogでとったグラフに

において、正規分布する（すなわち対数正規分布）と考えられている。また、標準偏差 σ は液体のように菌の分布が均一な食品では0.4であるが、不均一な食品や衛生管理が不明な複数の工場の製品が対象の場合、0.8あるいは1.2という値をとることがICMSFにより示されている。

次にPOを設定する。その次に対数正規分布の何割（例えば95%、99%、または99.9%）までがPOを満たすようにしたいか決定する。図2では標準偏差の2倍の範囲すなわち97.7%（ 3σ にすれば、より厳しくなる）がPOよりも低い位置にくることを確認できるサンプリングプランを必要とした場合を示した。この対数正規分布の右のテールの何%までPOを超えることはやむを得ないと考えるのはリスク管理上の判断である。図2では、POが $-0.85 \log_{10} \text{cfu/g}$ 、95%の信頼性で排除されるロットの平均値は $-0.85 - 2x\sigma$ （ここでは1.2） $= -3.25 \log_{10} \text{cfu/g}$ となっている。

次にConfidenceのレベルを決める。図2では分布の97.7%はPO以下になることを95%の確率で保証するSPを選ぶ例を示したが、99%の信頼性にす

れば、より厳しいサンプリングプランが必要となる。最後に検査方法を決定する。

International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF) のwebsiteから無料でDownloadできる、エクセルにadd-onした計算ソフトで必要な検体数や95%の信頼性で排除されるロットの平均濃度は計算できる。

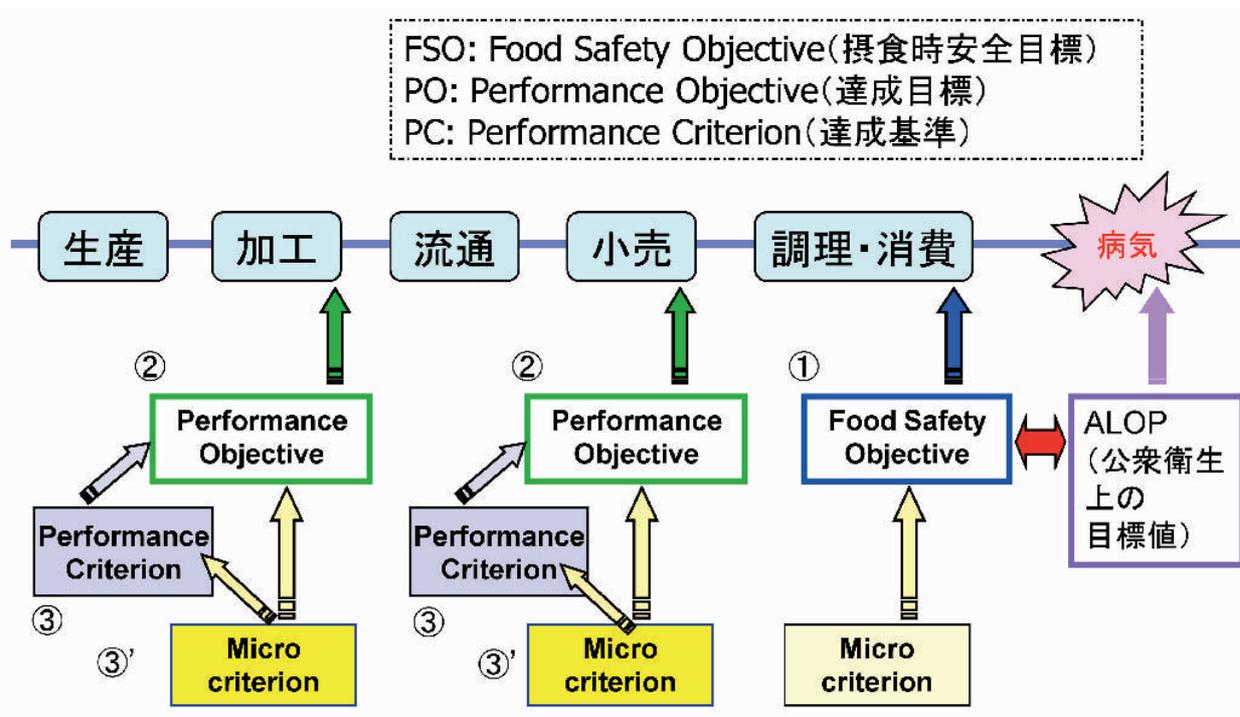
さて、以下に冷燻サーモン中のリステリアの例を示す。ここでの仮定は次のとおりとする。

- ①賞味期限が2週間、その間に*L.monocytogenes*は増殖する。
- ②FSOは $3.3 \log_{10} \text{cfu/g}$ とする
- ③すべての製品は賞味期限の最終日に喫食される
- ④製造から賞味期限の最終日の間に $0.6 \log_{10} \text{cfu/g}$ の増殖がおきる

POを製造直後とした場合、 $PO = 3.3 - 0.6 = 2.7 \log_{10} \text{cfu/g}$ となる。ロットの99%がこのPOを満たすようにする場合、95%の信頼性で排除されるロットの平均値は $2.7 - 2.33 \times \text{標準偏差}$ となる。ここで σ をどのように選択するかは製品の微生物汚染分布濃度に関する知識によるが、比較的均一

■ 図1 微生物リスク管理の数的指標から微生物規格への流れ

(厚生労働省食品衛生分科会食中毒・乳肉水産食品合同部会23年7月6日 資料2 春日文子原図による)



な分布をしていると仮定し、対数正規分布で、 σ を0.4と仮定する。そうすると95%の信頼性で、99%の確率で排除されるロットの菌の分布の平均値は $2.7-2.33 \times 0.4=1.77 \log_{10}\text{cfu/g}$ となる。

上述したICMSFのSP計算ソフトで計算すると、95%の信頼性で、これを満たさないロットを99%の確率で排除するためには $m=100$ の場合(n)は10検体が必要となる。 σ を0.8と仮定すると、平均は $2.7-2.33 \times 0.8=0.836 \log_{10}\text{cfu/g}$ となり、95%の信頼性で、これを満たさないロットを99%の確率で排除するためには $m=100$ の場合(n)は40検体が必要となる。

仮にFSOを $2.3 \log_{10}\text{cfu/g}$ 、POを $1.7 \log_{10}\text{cfu/g}$ 、 σ を0.4とした場合には、平均濃度は $1.7-2.33 \times 0.4=0.8 \log_{10}\text{cfu/g}$ となり、95%の信頼性で、99%の確率でこれを満たさないロットを排除するためには $m=100$ の場合(n)は 2.9×10^3 検体が必要となる。

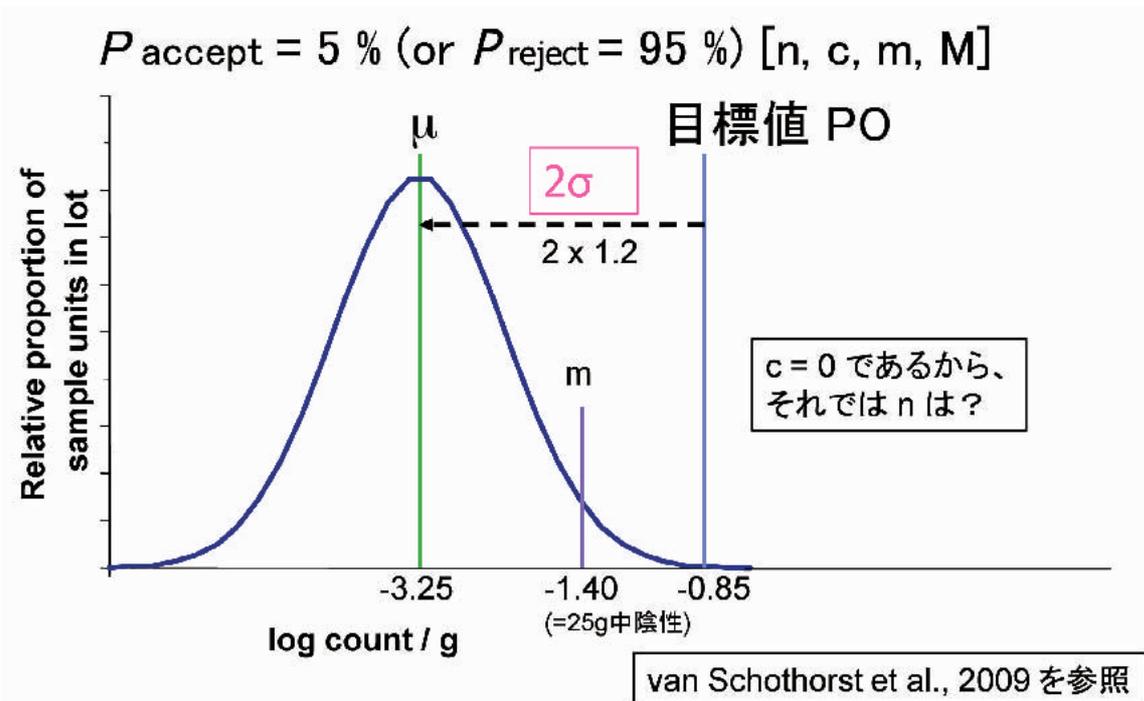
さて、FSO、POの決め方であるが、いろいろなPO値を借りおきし、それに対応するFSO、LOP (Level of Protection) を計算し、適切

(appropriate) と考えられたLOPをALOPとし、この値を満たすことができたPO値を選択する方法もある。例えば表4のような例では原材料としてのサケの菌数をPO-1、冷燻終了時をPO-2、包装終了時の菌数をPO-3、摂取時の菌数をFSOとして、PO-1を-3.31、-2.21、-1.21、-0.21及び 0.74cfu/g と仮定した場合のそれぞれのPO-1に対応するPO-2、PO-3を示したものである。PO-1、2、3及びFSOは予測微生物学を利用することによって、推定することが可能である。この例ではPO-1からPO-2の間に $1.07 \text{Log}(\text{cfu/g})$ の増加、PO-2からPO-3の間では $0.63 \text{Log}(\text{cfu/g})$ の増加、PO-3からFSOの間では $1.64 \text{Log}(\text{cfu/g})$ の増加を想定している。また、FSOと用量反応曲線(Dose-Response Curve)を用いて、FSOからLOPを推定することができる。もしリスク管理者がALOPを1喫食あたり 10^{-6} とすれば、FSOは 10^4cfu/g となり、包装終了時POは $2.44 \log_{10}\text{cfu/g}$ となるよう管理する必要がある。

この包装時PO $2.44 \log_{10}\text{cfu/g}$ をMCで確認しようとする場合、ロットの97.7%がこのPOを満たす

■図2 微生物規格の基準値と達成すべき目標値との関係

(厚生労働省食品衛生分科会食中毒・乳肉水産食品合同部会23年7月6日 資料2 春日文字原図による)



■表4 種々のPO値の例 (example; *Listeria monocytogenes* in smoked salmon) .

PO-1(原材料)	PO-2(冷燻終了時)	PO-3(包装終了時)	FSO	LOP
[Log (cfu/g)]	[Log (cfu/g)]	[Log (cfu/g)]	[Log (cfu/g)]	[Log (Probability of a case of listeriosis per serving)]
-3.21	-2.14	-1.51	0.13	-10.11
-2.21	-1.14	-0.51	1.13	-9.11
-1.21	-0.14	0.49	2.13	-8.11
-0.21	0.86	1.49	3.13	-7.11
0.74	1.82	2.44	4.09	-6.11

(Annex III ;Examples of the Use of Food Safety Objectives, Performance Objectives, Process and Product Criteria at Step 4 (Codex,2006) から引用)

ようにする場合、95%の確率で排除されるロットの平均値は $2.4-2 \times$ 標準偏差となり、上記のように σ を0.4とおくと、平均値は $1.6 \log_{10} \text{cfu/g}$ となる。この場合、 $m=100$ とした場合、必要とされる検体数は18検体となる。

4. おわりに

リスクアセスメントの進歩等により、リスクに基づくリスク管理措置の厳しさを定量的に決めることができるようになってきた。これにより、Hazardベースの時代には、MCを運用することで、ハザードのレベルは低減するだろうが、ヒトの

健康リスクは具体的にどの程度下がるかは明確に推定できなかったが、リスクベースの現在は、かなりの信頼性で実際のヒトの健康リスクの低減効果を推定することができるようになった。本稿で示したように、ALOP \Rightarrow FSO \Rightarrow PO、POの達成度をMCで確認するためのSPの活用、その際の対数正規分布の標準偏差の決定、対数正規分布のうち、何%までをPO以下にするのか、何%の信頼性でそれを確認するか、等をリスク管理者が決定すれば、それに応じたSPの実施によりリスクとの関連性を明らかにしたリスク管理を行うことができる。

参考文献

- [1] CAC (Codex Alimentarius Commission) (1997) . Principles for the establishment and application of microbiological criteria for foods, CAC/GL-21. FAO, Rome.
- [2] CAC (Codex Alimentarius Commission) (2007) . GUIDELINES ON THE APPLICATION OF GENERAL PRINCIPLES OF FOOD HYGIENE TO THE CONTROL OF LISTERIA MONOCYTOGENES IN FOODS CAC/GL 61 - 2007 FAO, Rome.
- [3] CAC (Codex Alimentarius Commission) (2008) . CODE OF HYGIENIC PRACTICE FOR POWDERED FORMULAE FOR INFANTS AND YOUNG CHILDREN CAC/RCP 66 - 2008 FAO, Rome.
- [4] CAC (Codex Alimentarius Commission) (2007) . Principles and guidelines for the conduct of microbiological risk management (MRM) . CAC/GL-63. FAO, Rome.
- [5] M. van Schothorst, M.H. Zwietering, T. Ross, R.L. Buchanan, M.B. Cole, International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF) .2009 Relating microbiological criteria to food safety objectives and performance objectives, Food Control 20, 967-979
- [6] International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF) 2011, Microorganisms in foods 8