

 Santé Canada / Health Canada

# AN OVERVIEW OF MICROBIAL FOOD SAFETY - A HEALTH CANADA PERSPECTIVE


**Dr. Jeffrey Farber**  
Director, Bureau of Microbial Hazards  
Food Directorate, Health Products and Food Branch  
Health Canada



 Santé Canada / Health Canada

# 微生物が関与する食品安全について - カナダ保健省の取組 -

**ジェフリー・ファーバー博士**  
カナダ保健省  
健康製品及び食品部門  
微生物ハザード課 課長





# Canada, eh?

- Canada is the world's 2nd largest country area wise (including its waters), and 4<sup>th</sup> largest in land area
- Lowest population density in the world, with only three people living per square kilometer! Almost half of the population in Canada was born in other countries
- French and English are official languages
- Country divided into 10 provinces and 3 territories
- Host of the 2010 Winter Olympics!

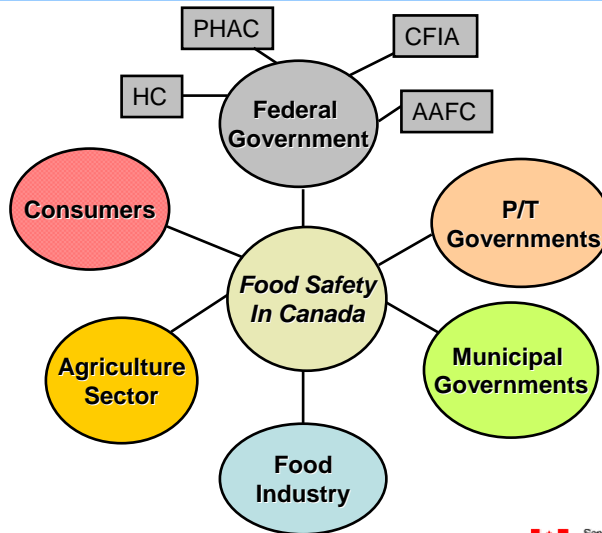


# カナダの概要

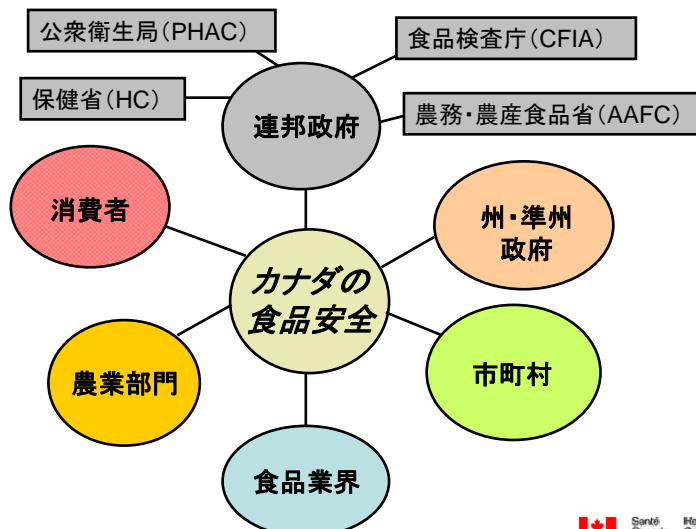
- 世界第2位の国土面積(水域を含む)  
世界第4位の陸地面積
- 世界で最も低い人口密度、1平方キロメートルあたり3人  
総人口の約半分は、カナダ以外の国の出身
- フランス語と英語が公用語
- 10の州と3つの準州からなる
- 2010年冬季オリンピックの開催国！



# Canada's Food Safety System



# カナダの食品安全制度



# Food safety and nutritional quality system in Canada...

## Other key federal partners

- **Canadian Food Inspection Agency (CFIA)**  
responsible for:
  - Enforcing federal food safety standards and policies set by HC under the Food and Drug Act (among the 13 Federal Acts and regulations they enforce)
  - Setting non-safety food standards and policies
- **Public Health Agency of Canada (PHAC)**  
responsible for:
  - Mobilizing pan-Canadian action to prevent an injury
  - Promote and protect national and international public health
- **Agriculture and Agri-Food Canada (AAFC)**  
responsible for:
  - On-farm food safety, environment control, innovation
  - Support to the sector for effective and efficient agriculture



... is a shared responsibility



# カナダの食品安全・栄養価保護制度は...

## 主要な連邦レベル関連機関

- **カナダ食品検査庁 (CFIA)**
  - ・カナダ保健省が食品医薬品法に基づき策定した食品安全基準と政策の実施 (13の連邦法とその施行規制の一部)
  - ・安全性と無関係の食品基準とその政策の設定
- **カナダ公衆衛生局 (PHAC)**
  - ・事故防止のため、全国レベルの活動を実施
  - ・国および国際レベルの公衆衛生の推進・維持
- **カナダ農務・農産食品省 (AAFC)**
  - ・農場での食品安全、環境管理、技術革新
  - ・効果的・効率的な農業を実現するための農業分野の支援



... これらが共通の責務



## Food safety and nutritional quality system in Canada...

- Food safety and nutritional quality in Canada is a shared responsibility
  - Federal government, Provinces, Territories, Municipalities, Industry, Consumers
  - 37 different governments and agencies; 90 pieces of legislation at federal and provincial/territorial levels deal with aspects of food safety
- **Health Canada** responsible for:
  - Setting standards for food related to health and safety (regulations, policies, guidelines)
  - Assessing effectiveness of the Canadian Food Inspection Agency (CFIA)
- **Food Directorate in Health Products and Food Branch** is the federal health authority responsible for establishing policies, setting standards, and providing advice and information on the safety and nutritional value of food



... is a shared responsibility

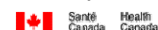


## カナダの食品安全・栄養価保護制度は...

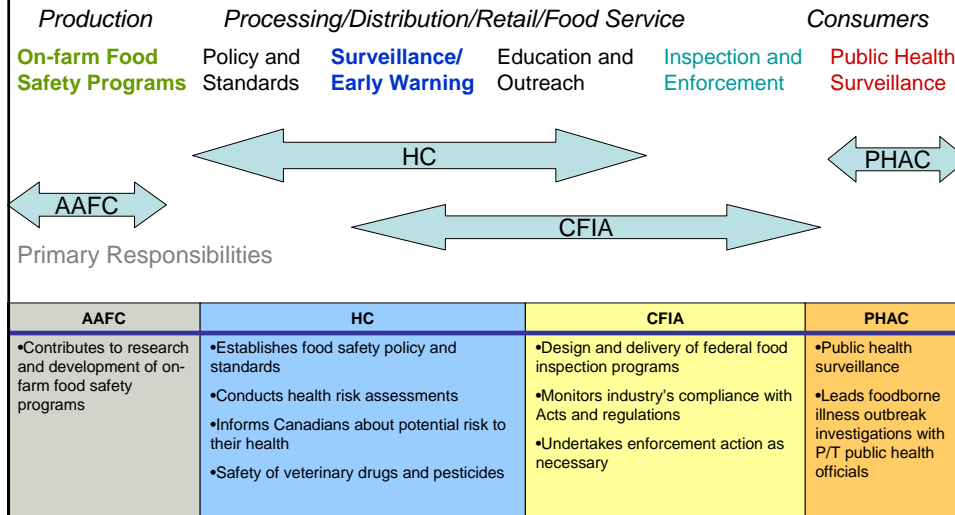
- カナダの食品安全・栄養価保護制度は、多機関の共有責任のもとに行われている。
  - 連邦政府、州政府、準州政府、市町村、産業界、消費者。
  - 37の政府関連機関、90の法規制(連邦・州・準州レベル)が食品安全に関わっている。
- **カナダ保健省**の担当業務:
  - 健康と安全に関連した食品基準の策定(法規、方針、ガイドライン)。
  - 食品検査庁(CFIA)の有効性を評価。
- **健康製品および食品部門、食品担当**は連邦政府の健康担当機関であり、方針の策定、基準の制定、食品の安全と栄養価に関するアドバイスと情報を提供することを任務とする。



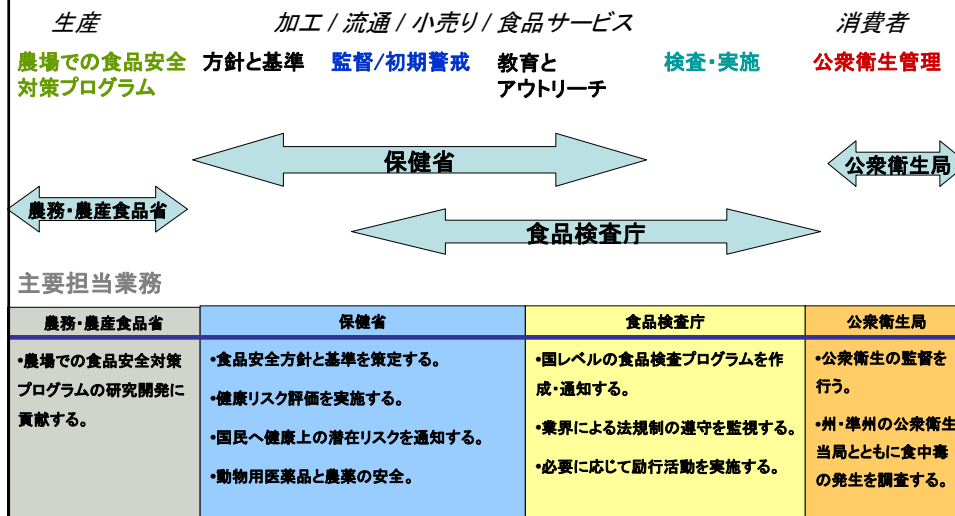
多機関が責任を共有している。



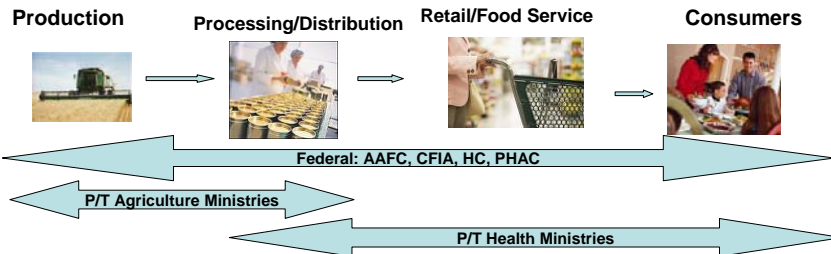
# Federal food safety responsibilities are shared



# 連邦政府の食品安全に関する責任分担



# Federal and provincial/territorial responsibilities overlap



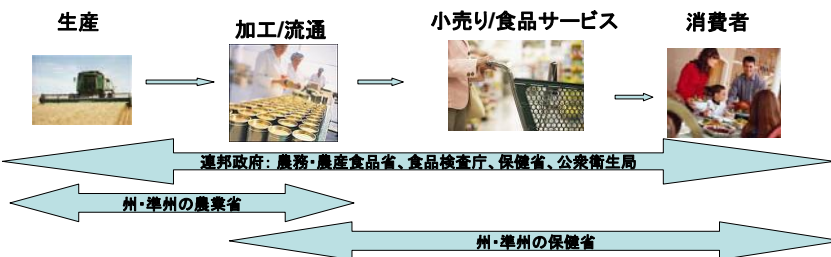
## Federal

- Enact, administer and enforce food safety laws pertaining to all food sold in Canada
- Enact, administer and enforce trade and commerce legislation for certain commodities traded internationally or inter-provincially (e.g., meat, fish)
- Set standards and policy for federally-registered establishments
- Provide Canadians with public health information, advice and leadership
- Undertake food safety and quality research
- On-farm food safety programming

## Provincial/Territorial

- Enact, administer and enforce food safety laws within provincial jurisdictions
- Set standards and policy for provincially licensed establishments
- Provincial health ministries lead and participate in the investigation of foodborne outbreaks

# 連邦政府と州・準州政府の担当分野は一部重複している



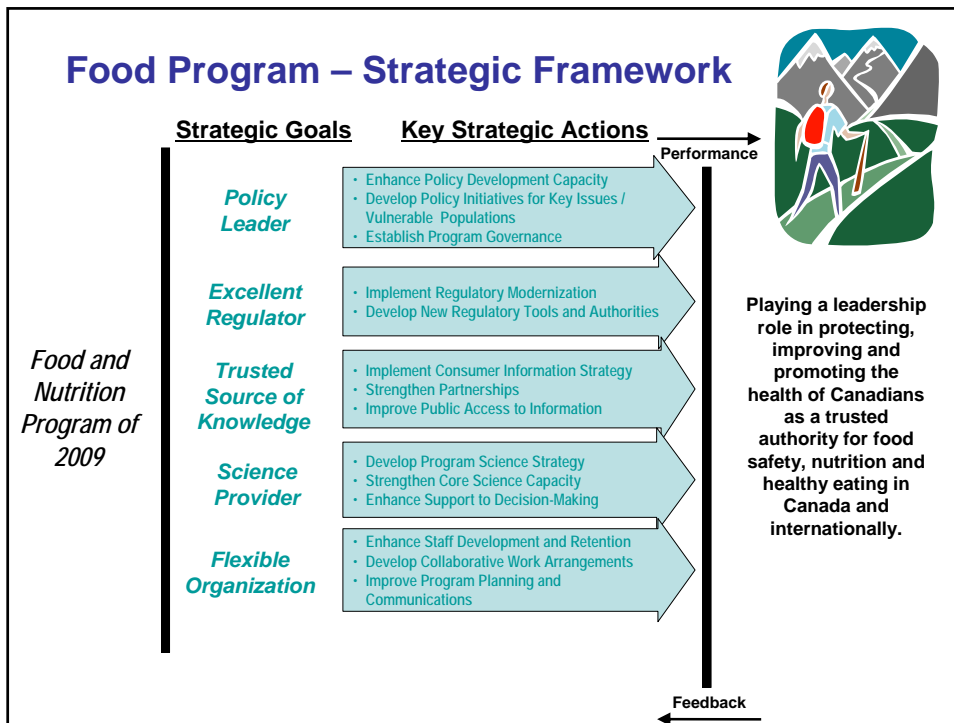
## 連邦政府

- カナダ国内で販売される全ての食品の食品安全に関する法規を制定、執行、施行する。
- 多国間あるいは州間で取引される食品の一部(食肉、魚など)の通商に関する法規を制定、執行、施行する。
- 国レベルで登録される施設に関する基準と方針を定める。
- 国民に公衆衛生に関する情報、アドバイス、指導を提供する。
- 食品の安全と質に関する研究を行う。
- 農場での食品安全対策。

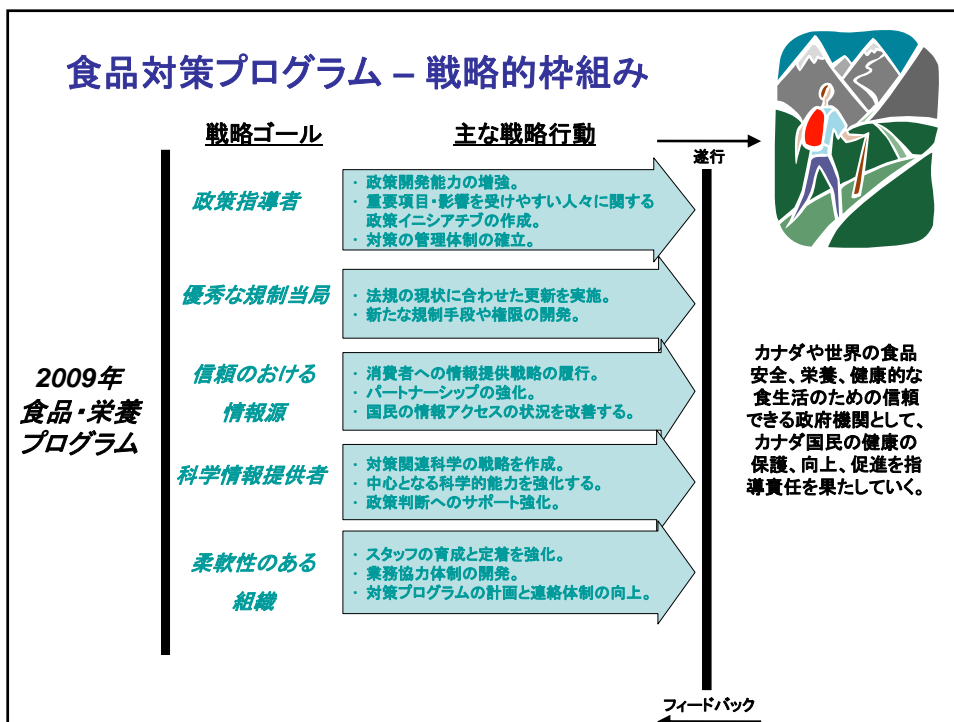
## 州・準州

- 州の権限内で食品安全に関する法規を制定、執行、施行を行う。
- 州レベルで登録される施設に関する基準と方針を定める。
- 州の保健省は、食品媒体性疾患の流行調査を指導し参加する。

## Food Program – Strategic Framework



## 食品対策プログラム – 戦略的枠組み

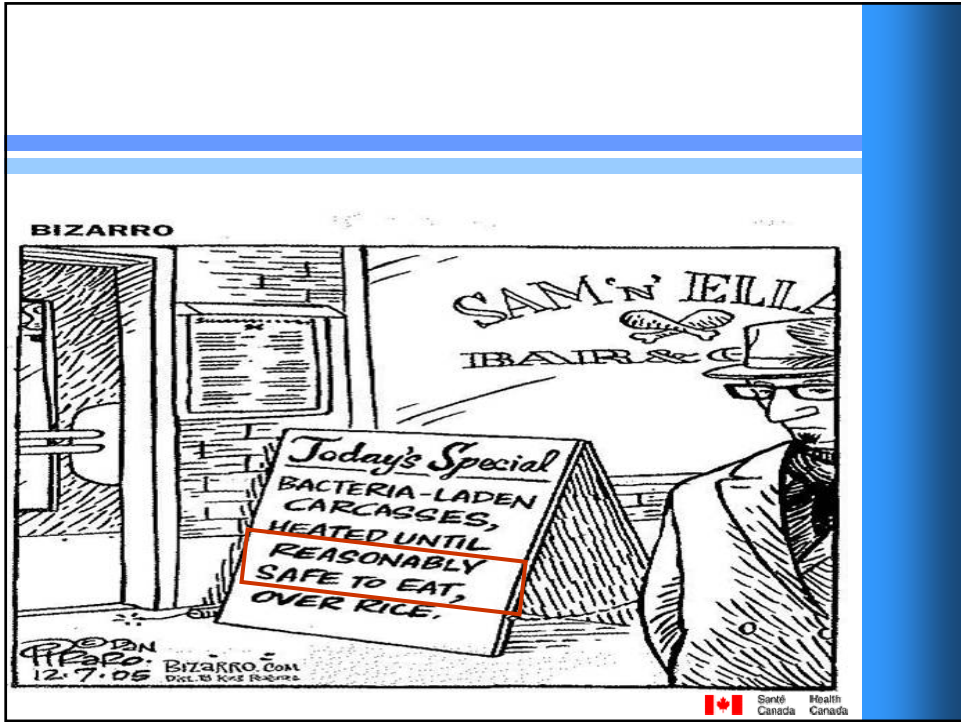


## An Overview of How Risk Assessment and Risk Management Work Between Health Canada and CFIA



## カナダ保健省と食品検査庁の間で行う リスク評価とリスク管理業務の概要

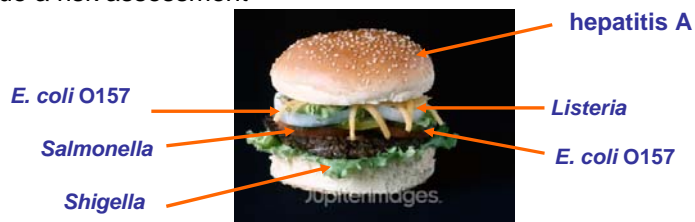




## Risk Profile

A possible step before Risk Assessment is the development of a **Risk Profile**, which

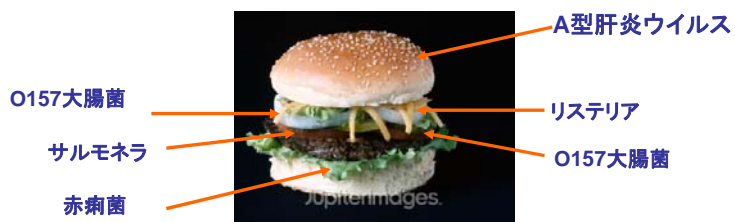
- Places the issue within food safety content
- Provides as much information as possible to help risk managers clarify their risk assessment questions
- Concludes with a risk management decision on whether to pursue a risk assessment



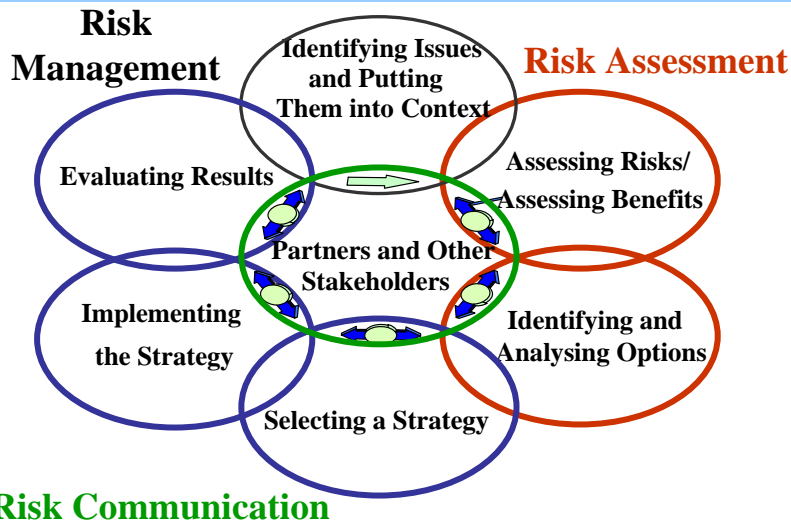
## リスクプロファイル

リスク評価の前に行う作業として、**リスクプロファイル**の作成を行うことが可能である。**リスクプロファイル**は:

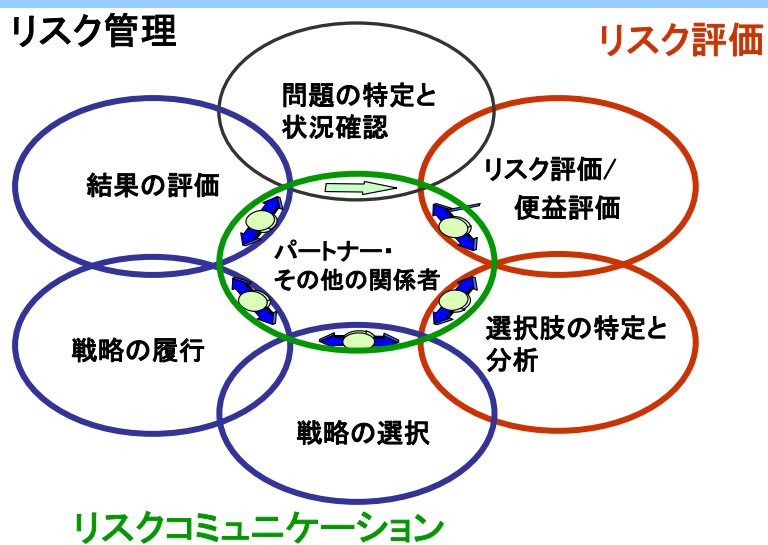
- 問題を食品安全の概念に照らし合わせる。
- リスク管理者がリスク評価上の疑問を明確化する上で役立つ情報をできるだけたくさん提供する。
- リスク評価の実行の有無に関するリスク管理決定を最後に示す。



# HC's Decision-Making Framework



# カナダ保健省における意志決定の枠組み



## Risk Assessments Vary in Complexity

- Qualitative
- Semi-quantitative
- Quantitative



## リスク評価の複雑性は様々である

- 定性的リスク評価
- 半定量的リスク評価
- 定量的リスク評価



# Qualitative Risk Assessments

## Microbiological

- Health Risk Assessments (HRAs) in response to CFIA and FPT requests
- Sprouted Seeds/Beans
- Unpasteurized fruit juice/cider



# 定性的リスク評価

## 微生物学的評価

- 食品検査庁や連邦、州・準州政府の要請に応じた健康リスク評価 (HRA)
- 種子・豆のsprout(芽)
- 低温殺菌していないフルーツジュース「アップルサイダー」



## Quantitative Risk Assessments

### Microbiological

- *Salmonella* Enterditis in eggs
- BSE infectivity in Canadian beef and beef products and the risk to Canadian consumers of acquiring vCJD



## 定量的リスク評価

### 微生物学的評価

- 卵中のサルモネラ・エンテリティディス
- カナダ産牛肉・牛肉製品におけるBSEの感染性。  
カナダ国民が変異型クロイツフェルト・ヤコブ病（vCJD）に感染するリスク。



## Health Risk Assessments

## 健康リスク評価

## Health Risk Assessments

- Performed by the Evaluation Divisions, Bureau of Microbial Hazards and Bureau of Chemical Safety
- HRAs determine whether a health hazard exists or whether there is potential for a hazard to exist
- Potential health risks are chemicals, foodborne pathogens or injurious extraneous material in food



 Santé Canada Health Canada

## 健康リスク評価

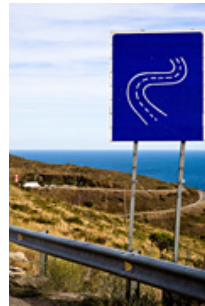
- 微生物ハザード課および化学品安全課の評価部門が行う。
- リスク評価によって、健康上のハザードが存在するか、あるいはハザードが存在する可能性があるかを判断する。
- 健康リスクとなりうるのは、化学物質、食品媒介性病原体、食品中の有害な異物である。



 Santé Canada Health Canada

## HRAs – The Process

- A formal request for an HRA, plus all the data available are provided to the scientific evaluator in written format
- Requests are received from CFIA, FPT, etc.
- Is it a Health Risk 1, 2, or 3?



## 健康リスク評価:プロセス

- 健康リスク評価の正式要請と入手可能な全データが、科学的評価担当者に書面で送られる。
- 食品検査庁や連邦・州・準州政府などから要請を受ける。
- 健康リスク1、2、3のどれかを決定する。



## HRAs- The Process

### The evaluator reviews the information provided for adequacy and reliability

- The evaluator may request additional information
- A search for similar scenarios in the literature departmental records, etc., is carried out
- Appropriate experts are consulted as required
- An ongoing two-way dialogue with the clients (e.g., CFIA) is common

## 健康リスク評価:プロセス

### 評価者が、提供された情報の妥当性と信憑性を評価する。

- 評価者が追加情報を要求することもある。
- 同様の状況が過去にないか、文献や政府記録などを調べる。
- 必要に応じて専門家に意見を求める。
- クライアント(食品検査庁など)と継続的に双方向対話を行うことが通例である。

## HRAs- The Process

A Health Risk Assessment is performed using a modified version of the process described in the Codex Alimentarius document

*Principles and guidelines for the conduct of a microbiological risk assessment*



## 健康リスク評価:プロセス

健康リスク評価は、国際食品規格委員会(Codex)の文献に示された手順を修正したものを使用して行われる。

*微生物学的リスク評価の実施のための  
原則とガイドライン*



## HRAs- The Process

- Situation Summary or Purpose
- Analysis of Hazards
  - Hazard Identification
  - Hazard Evaluation
- Exposure Assessment
  - Dose-Response Assessment
  - Hazards Exposure Characterization
- Risk Characterization (Estimation)
- Determination of Health Risk (1, 2 or 3)
- Communication/ Follow up
- Reference/Documentation



## 健康リスク評価:プロセス

- 状況の概要または目的
- ハザードの分析
  - ハザード関連情報整理
  - ハザードの評価
- 暴露評価
  - 用量反応評価
  - ハザード暴露の特性化
- リスク特性解析(推定)
- 健康リスクの決定(1、2、3)
- コミュニケーション/ フォローアップ
- 参考文献/文書化



## Determination of Health Risk

- Health Risk 1
- Health Risk 2
- Health Risk 3

## 健康リスクの決定

- 健康リスク1
- 健康リスク2
- 健康リスク3

## Health Risk Assessments

Total of 56 HRA's completed since January 2009

- 14 designated Health Risk 1
- 21 designated Health Risk 2
- 2 designated Health Risk 3
- 19 designated No Health Risk

1,2,3



## 健康リスク評価

2009年1月から合計56件の健康評価を終了

- 14件:健康リスク1 と判定
- 21件:健康リスク2と判定
- 2件:健康リスク3と判定
- 19件:健康リスクなしと判定

1,2,3



## HRAs 2009-2010

- **14 Health Risk 1** - Organisms/ products involved were:
  - *Listeria monocytogenes (Lm)* - smoked ham, sliced ham, cheese, FCS: MLF weiners, sausage
  - *Salmonella* spp. – peanuts, sprouts
- **21 Health Risk 2** - Organisms/ products involved were:
  - *Salmonella* spp. – peanuts, pistacchio dessert, tahini, Gourmet salad, sprouts, onion seeds, basil, granola bars, cream cheese
  - *Lm* – deli sandwiches, leeks

## 健康リスク評価:2009年－2010年

- **健康リスク1(14件)** - 関係した生物/製品:
  - リステリア菌 (*Listeria monocytogenes (Lm)*): スモークハム、スライスハム、チーズ、食品接触物質 (FCS): メープルリーフフード社 (MLF) のフランクフルト、ソーセージ
  - サルモネラ菌 (*Salmonella* spp.): ピーナッツ、スプラウト
- **健康リスク2(21件)** - 関係した生物/製品:
  - サルモネラ属菌 (*Salmonella* spp.): ピーナッツ、ピスタチオのデザート、タヒニ(練りゴマ)、グルメサラダ、スプラウト、オニオンシード、バジル、グラノラバー、クリームチーズ
  - リステリア菌 (*Lm*): デリ・サンドイッチ、リーキ(西洋ネギ)

## Health Risk 1

The health risk identified represents a situation where there is a reasonable probability that the consumption/exposure to a food will lead to adverse health consequences which are **serious or life-threatening**, or that the **probability** of a foodborne **outbreak** situation is considered **high**.

## 健康リスク1

健康リスク1とは:

食品の消費あるいは食品への暴露から**重大な、あるいは命に関わる**健康への悪影響がもたらされる十分な可能性がある、または、食品媒介疾患の**集団発生が起こる可能性が高い**と考えられる状態を意味する。

## Health Risk 2

The health risk identified represents a situation where there is a reasonable probability that the consumption/exposure to a food will lead to **temporary or non-life threatening** health consequences, or that the **probability of serious adverse consequences** is considered **remote**.

## 健康リスク2

健康リスク2とは:

食品の消費あるいは食品への暴露から**一時的な、あるいは命に関わることのない**健康への悪影響がもたらされる十分な可能性がある、または、**重大な悪影響の可能性がごく低い**と考えられる状態を意味する。

## Health Risk 3

This represents a situation where there is a reasonable probability that the consumption/exposure to a food is **not likely to result in any adverse health consequence**. The situation identified may be an indication of a breakdown in Good Manufacturing Practices; in Good Agricultural Practices; in Good Practices in Veterinary Medicine or some other relevant factor.

## 健康リスク3

健康リスク3とは:

食品の消費あるいは食品への暴露が**健康上の悪影響をおよぼすことはない**可能性が十分にある状態を意味する。この状態が特定されるのは、適正製造規範、適正農業規範、動物用医薬品における適正規範、あるいはその他関連要素に問題があったことを示している可能性がある。

## Communication / Follow-up

### Communication is a two-way process

- The conclusion of the HRA is communicated to the client to determine the Risk Management Actions to be taken
- The CFIA informs the Evaluation Divisions of the Risk Management details

### Consultation on Risk Assessments

- Not always appropriate (e.g., HRAs)
- Beginning to use a Peer-Review process for formal risk assessments
  - ✓ e.g., Risk Profile for *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*

## コミュニケーション / フォローアップ

### コミュニケーションは、双方向のプロセスである。

- 健康リスク評価の結果がクライアントに通知され、とるべきリスク管理行動の決定が行われる。
- 食品検査庁は、評価部門にリスク管理の詳細を通知する。

### リスク評価に関する相談

- 常に適切とは限らない。(例: 健康リスク評価)
- 正式なリスク評価でのピア・レビュー法の使用が始まっている。
  - ✓ 例: *Mycobacterium avium* subsp.、*paratuberculosis* に関するリスクプロファイル。

## Decision Tree Timeline for Risk Assessment

Written information from CFIA → Preliminary assessment:

Potential HR1 or Potential HR2 or Potential HR3



Is information complete and adequate?

✕ If No ➡ Request additional info (clock stops briefly)

⊕ If Yes ➡ Priority ranking:



Potential HR 1



8h for assessment



Potential HR 2



24h for assessment



Potential HR 3



24h for assessment



## リスク評価の決定ツリーのタイムライン

食品検査庁からの書面による情報 → 予備評価:  
健康リスク1の可能性、健康リスク2の可能性、健康リスク3の可能性



情報は完全で適切か?

✕ “No” であれば ➡ 追加情報を要求 (一時的に時計が止まる)

⊕ “Yes” であれば ➡ 優先順位:



健康リスク1の可能性



8時間で評価



健康リスク2の可能性



24時間で評価



健康リスク3の可能性



24時間で評価



## An Overview of Microbial Food Safety Research at Health Canada



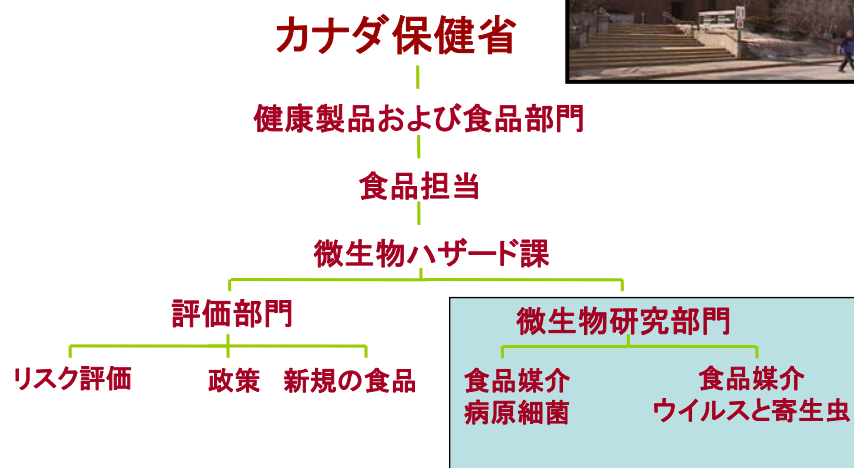
## カナダ保健省における 微生物が関与する食品安全研究



## Organization



## 組織図



## Significance of our Research

Foodborne illnesses are increasing due to increase in global trade, increased demand for food varieties, increased demand for RTE foods, international travel, consumption of raw foods, and diversity of food sources

-Estimate that there are 11-13 million total foodborne illnesses annually in Canada

## カナダ保健省における研究の意義

世界的な貿易の増加、より多種の食品への需要の高まり、非加熱喫食調理済み食品への需要の増加、海外旅行、未加熱食品の消費、食品源の多様化などのため、食品を媒介とする疾患が増えている。

-カナダ国内で、年間1,100万件から1,300万件の食品媒介疾患が発生していると推定される。



Listeria



E. coli

Campylobacter

Noroviruses

Cryptosporidium

Shigella



Vibrios

Hepatitis A virus

Salmonella



Listeria  
リステリア



E. coli  
大腸菌

Campylobacter  
カンピロバクター

Noroviruses  
ノロウイルス

Cryptosporidium  
クリプトスポリジウム

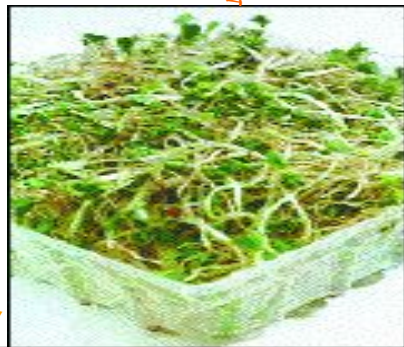
Shigella  
赤痢菌



Vibrios  
ビブリオ

Hepatitis A virus  
A型肝炎ウイルス

Salmonella  
サルモネラ



## Research on.....

- *Salmonella*  
 - *Listeria*\*  
 - *Shigella*  
 - *Vibrios*  
 - *Clostridium*\*  
 - *E. coli*  
 - *Campylobacter*

- *Hepatitis A Virus*  
 - *Norovirus*  
 - *Rotavirus*  
 - *Hepatitis E Virus*

- *Giardia*  
 - *Cryptosporidium*  
 - *Cyclospora*

### Developing Diagnostic Methodologies

#### • Cultural

- Bacteriological Media
- Viral / Parasitic Cell Culture

#### • Molecular

- PCR / RT-PCR
- MLST, RLFP, Ribotyping
- DNA Microarray Chips
- Microfluidics

#### Others

- Flow Cytometry, ELISA, EM/TEM

#### • Investigating Biological/Pathological traits

- Microbial survival & inactivation
- Prevalence in foods

guidelines, policies, regulations

## 研究の対象は.....

- サルモネラ  
 - リステリア\*  
 - 赤痢菌  
 - ビブリオ  
 - クロストリジウム\*  
 - 大腸菌  
 - カンピロバクター

- A型肝炎ウイルス  
 - ノロウイルス  
 - ロタウイルス  
 - E型肝炎ウイルス

- アルディア  
 - クリプトスポリジウム  
 - シクロスポラ

### 診断方法の開発

#### • 培養

- 細菌学的培地
- ウイルス / 寄生虫の細胞培養

#### • 分子レベル

- PCR法 / RT-PCR法
- MLST法、RLFP法、リボタイピング
- DNA マイクロアレイチップ
- マイクロフルイディクス

#### その他

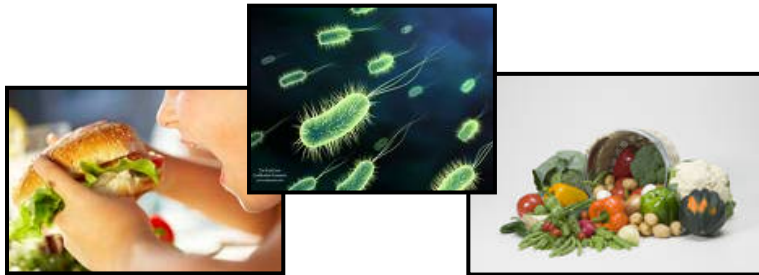
- フローサイトメトリー、ELISA、EM/TEM

#### • 生物学的・病理学的特性の調査

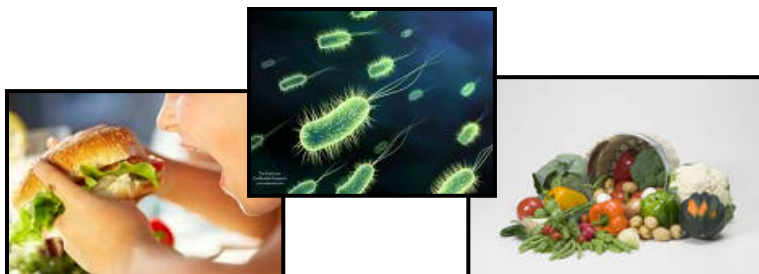
- 微生物の生存と不活性化
- 食品中の汚染率

ガイドライン、政策、規制

## Foodborne Bacterial Pathogens



## 食中毒を引き起こす細菌



## Salmonella Enterica

### Research Activities

- Evaluate and develop a PCR/microarray-based method as an alternative to traditional serotyping
- Evaluate and improve methods for enhanced discrimination within *S. Enteritidis* and *S. Heidelberg* phage types
- Evaluate the use of immunomagnetic separation (IMS) to isolate *Salmonella* from food
- Identify *Salmonella* biomarkers for use in the development of novel tools for the rapid and sensitive detection and characterization of *Salmonella* from foods



## サルモネラ (*Salmonella Enterica*)

### 研究活動

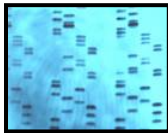
- これまでの血清型別法に代わるPCR/マイクロアレイに基づく方法を評価・開発する。
- *S. Enteritidis* と *S. Heidelberg* ファージ型内での識別向上の方法を評価・改良する。
- サルモネラの食品からの単離における免疫磁気分離法 (IMS) の使用を評価する。
- 食品中のサルモネラを迅速かつ高感度に検出し特徴付けするための新たなツールを開発する際に使用できるサルモネラバイオマーカーの特定を行う。



## Listeria and Cronobacter spp. (*E. sakazakii*)

### Research Activities

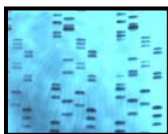
- Developing rapid detection methods for Lm
- Ecology of *L. monocytogenes*
- Diagnostics, molecular characterization and typing of Lm, *Cronobacter spp.*, and other foodborne pathogens
  - ✓ PCR, PFGE, ribotyping, DNA microarray
- Sequencing projects



## リステリアおよびクロノバクター (*E. sakazakii*)

### 研究活動

- ・ リステリアの迅速な検出方法の開発
- ・ *L. monocytogenes*の生態の解明
- ・ リステリア、*Cronobacter spp.*、その他の食品媒介病原体の診断、分子特性、タイプ分類
  - ✓ PCR、PFGE、リボタイピング、DNA マイクロアレイ
- ・ 塩基配列決定プロジェクト



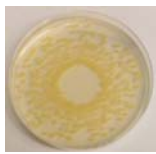
## Methodological issues: *Cronobacter* spp.



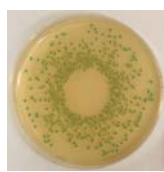
API 20E positive *C. sakazakii*



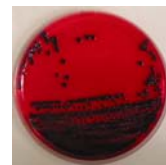
API 32E positive *C. sakazakii*



Yellow pigmented colonies on TSA



Blue-green on DFI



Dark blue on ESPM



Non-primate animal models



## 方法上の課題: クロノバクター



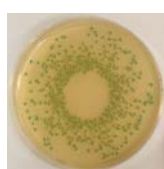
API 20E 陽性の *C. sakazakii*



API 32E 陽性の *C. sakazakii*



TSA上で黄色染色されたコロニー



DFI上で青緑色



ESPM上で濃青色



非霊長類動物モデル



## *Enterobacter sakazakii* in Dried Infant Formulas and Milk Kitchens of Maternity Wards in São Paulo, Brazil

GABRIELA PALCICH,<sup>1</sup> CINTIA DE MORAES GILLIO,<sup>1</sup> LINA CASALE ARAGON-ALEGRO,<sup>1</sup> FRANCO J. PAGOTTO,<sup>2</sup> JEFFREY M. FARBER,<sup>2</sup> MARIZA LANDGRAF,<sup>1</sup> AND MARIA TERESA DESTRO<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Food and Experimental Nutrition, Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of São Paulo, Av. Prof. Lineu Prestes, 580, bloco 14, 05508-900, São Paulo, SP, Brazil; and <sup>2</sup>Bureau of Microbial Hazards, Health Products and Food Branch, Food Directorate, Health Canada, 251 Promenade Sir F.G. Banting Driveway, P/L 2204E, Ottawa, Ontario, Canada K1A 0K9

MS 08-122: Received 7 March 2008/Accepted 31 July 2008

### ABSTRACT

This study was the first conducted in Brazil to evaluate the presence of *Enterobacter sakazakii* in milk-based powdered infant formula manufactured for infants 0 to 6 months of age and to examine the conditions of formula preparation and service in three hospitals in São Paulo State, Brazil. Samples of dried and rehydrated infant formula, environments of milk kitchens, water, bottles and nipples, utensils, and hands of personnel were analyzed, and *E. sakazakii* and *Enterobacteriaceae* populations were determined. All samples of powdered infant formula purchased at retail contained *E. sakazakii* at <0.03 most probable number (MPN)/100 g. In hospital samples, *E. sakazakii* was found in one unopened formula can (0.3 MPN/100 g) and in the residue from one nursing bottle from hospital A. All other cans of formula from the same lot bought at a retail store contained *E. sakazakii* at <0.03 MPN/100 g. The pathogen also was found in one cleaning sponge from hospital B. *Enterobacteriaceae* populations ranged from 10<sup>1</sup> to 10<sup>5</sup> CFU/g in cleaning aids and <5 CFU/g in all formula types (dry or rehydrated), except for the sample that contained *E. sakazakii*, which also was contaminated with *Enterobacteriaceae* at 5 CFU/g. *E. sakazakii* isolates were not genetically related. In an experiment in which rehydrated formula was used as the growth medium, the temperature was that of the neonatal intensive care unit (25°C), and the incubation time was the average time that formula is left at room temperature while feeding the babies (up to 4 h), a 2-log increase in levels of *E. sakazakii* was found in the formula. Visual inspection of the facilities revealed that the hygienic conditions in the milk kitchens needed improvement. The length of time that formula is left at room temperature in the different hospitals while the babies in the neonatal intensive care unit are being fed (up to 4 h) may allow for the multiplication of *E. sakazakii* and thus may lead to an increased health risk for infants.



## ブラジル・サンパウロ市の産科病棟における乳児用粉ミルクと調乳キッチン内での *Enterobacter sakazakii* の検出

GABRIELA PALCICH,<sup>1</sup> CINTIA DE MORAES GILLIO,<sup>1</sup> LINA CASALE ARAGON-ALEGRO,<sup>1</sup> FRANCO J. PAGOTTO,<sup>2</sup> JEFFREY M. FARBER,<sup>2</sup> MARIZA LANDGRAF,<sup>1</sup> AND MARIA TERESA DESTRO<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Food and Experimental Nutrition, Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of São Paulo, Av. Prof. Lineu Prestes, 580, bloco 14, 05508-900, São Paulo, SP, Brazil; and <sup>2</sup>Bureau of Microbial Hazards, Health Products and Food Branch, Food Directorate, Health Canada, 251 Promenade Sir F.G. Banting Driveway, P/L 2204E, Ottawa, Ontario, Canada K1A 0K9

MS 08-122: Received 7 March 2008/Accepted 31 July 2008

### ABSTRACT

This study was the first conducted in Brazil to evaluate the presence of *Enterobacter sakazakii* in milk-based powdered infant formula manufactured for infants 0 to 6 months of age and to examine the conditions of formula preparation and service in three hospitals in São Paulo State, Brazil. Samples of dried and rehydrated infant formula, environments of milk kitchens, water, bottles and nipples, utensils, and hands of personnel were analyzed, and *E. sakazakii* and *Enterobacteriaceae* populations were determined. All samples of powdered infant formula purchased at retail contained *E. sakazakii* at <0.03 most probable number (MPN)/100 g. In hospital samples, *E. sakazakii* was found in one unopened formula can (0.3 MPN/100 g) and in the residue from one nursing bottle from hospital A. All other cans of formula from the same lot bought at a retail store contained *E. sakazakii* at <0.03 MPN/100 g. The pathogen also was found in one cleaning sponge from hospital B. *Enterobacteriaceae* populations ranged from 10<sup>1</sup> to 10<sup>5</sup> CFU/g in cleaning aids and <5 CFU/g in all formula types (dry or rehydrated), except for the sample that contained *E. sakazakii*, which also was contaminated with *Enterobacteriaceae* at 5 CFU/g. *E. sakazakii* isolates were not genetically related. In an experiment in which rehydrated formula was used as the growth medium, the temperature was that of the neonatal intensive care unit (25°C), and the incubation time was the average time that formula is left at room temperature while feeding the babies (up to 4 h), a 2-log increase in levels of *E. sakazakii* was found in the formula. Visual inspection of the facilities revealed that the hygienic conditions in the milk kitchens needed improvement. The length of time that formula is left at room temperature in the different hospitals while the babies in the neonatal intensive care unit are being fed (up to 4 h) may allow for the multiplication of *E. sakazakii* and thus may lead to an increased health risk for infants.



## Verotoxigenic *Escherichia coli* (VTEC)

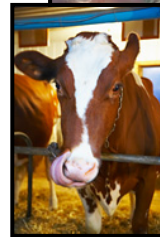
### Detection methodology:

#### Current Methods

- Phenotypic tests for serotype O157
- PCR - virulence factors and other traits
- Antibody-verotoxin, LPS oligosaccharide, flagellin

#### Challenges

- Distinguishing from non-pathogenic *E. coli*
- Cells in a complex matrix at low concentrations
- Serotype poorly associated with virulence factors
- Identifying additional virulence factors



## ベロトキシン産生性大腸菌 *Escherichia coli* (VTEC)

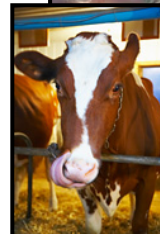
### 検出方法:

#### 現在の方法

- 血清型O157の表現型テスト
- PCR – 病原性因子およびその他の特性
- 抗体-ベロ毒素、リポ多糖(LPS) オリゴ糖、フラジェリン

#### 課題

- 非病原性大腸菌との区別
- 低濃度で複雑なマトリクスに存在する細胞
- 血清型と病原性因子との関連性の低さ
- 他の病原性因子の同定



## Application of High Pressure Processing To Kill *Escherichia coli* O157 in Ready-to-Eat Meats

ALEXANDER O. GILL<sup>1\*</sup> AND HOSAHALLI S. RAMASWAMY<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Bureau of Microbial Hazards, Health Products and Food Branch, Health Canada, Postal Locator 2204E, Ottawa, Ontario, Canada K1A 0K9; and <sup>2</sup>Department of Food Science and Agricultural Chemistry, McGill University, Ste. Anne de Bellevue, Quebec, Canada H9X 3V9

MS 08-110: Received 28 February 2008/Accepted 8 June 2008

### ABSTRACT

Uncooked ready-to-eat (RTE) meats have previously been identified as vehicles for the transmission of the foodborne pathogen *Escherichia coli* O157. In this study, the potential for high pressure processing (HPP) to kill *E. coli* O157 in two RTE meats (Hungarian salami and All Beef salami) was investigated. The RTE meats were inoculated with a five-strain cocktail of *E. coli* O157, vacuum packed, and then pressure treated at 600 MPa with a hold time of 3 min. Samples were stored at 15°C for 28 days. HPP initially reduced *E. coli* numbers on both RTE meats by greater than 4 log CFU/g. However, with enrichment and immunomagnetic separation we were able to recover *E. coli* O157 from the samples. During storage, the numbers of *E. coli* O157 increased on the All Beef samples but remained static on the Hungarian salami, which had a restrictive pH and water activity. Increasing the hold time to 6 or 9 min did not result in additional reduction of *E. coli* O157. The sensory appeal of the two products was not significantly changed by HPP as determined by a sensory panel ( $n = 50$ ). Analysis of the reflected light parameters of luminance, green-red, and blue-yellow revealed no significant changes. The results of these experiments indicate that HPP has potential as a lethal treatment for *E. coli* O157 on RTE meats with minimal changes in consumer appeal.



## 非加熱喫食調理済み (RTE) 食肉製品内の *Escherichia coli* O157 殺菌のための高圧加工の応用

ALEXANDER O. GILL<sup>1\*</sup> AND HOSAHALLI S. RAMASWAMY<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Bureau of Microbial Hazards, Health Products and Food Branch, Health Canada, Postal Locator 2204E, Ottawa, Ontario, Canada K1A 0K9; and <sup>2</sup>Department of Food Science and Agricultural Chemistry, McGill University, Ste. Anne de Bellevue, Quebec, Canada H9X 3V9

MS 08-110: Received 28 February 2008/Accepted 8 June 2008

### ABSTRACT

Uncooked ready-to-eat (RTE) meats have previously been identified as vehicles for the transmission of the foodborne pathogen *Escherichia coli* O157. In this study, the potential for high pressure processing (HPP) to kill *E. coli* O157 in two RTE meats (Hungarian salami and All Beef salami) was investigated. The RTE meats were inoculated with a five-strain cocktail of *E. coli* O157, vacuum packed, and then pressure treated at 600 MPa with a hold time of 3 min. Samples were stored at 15°C for 28 days. HPP initially reduced *E. coli* numbers on both RTE meats by greater than 4 log CFU/g. However, with enrichment and immunomagnetic separation we were able to recover *E. coli* O157 from the samples. During storage, the numbers of *E. coli* O157 increased on the All Beef samples but remained static on the Hungarian salami, which had a restrictive pH and water activity. Increasing the hold time to 6 or 9 min did not result in additional reduction of *E. coli* O157. The sensory appeal of the two products was not significantly changed by HPP as determined by a sensory panel ( $n = 50$ ). Analysis of the reflected light parameters of luminance, green-red, and blue-yellow revealed no significant changes. The results of these experiments indicate that HPP has potential as a lethal treatment for *E. coli* O157 on RTE meats with minimal changes in consumer appeal.



## Multidisciplinary Collaborative Project

- Health Canada
- Canadian Food Inspection Agency
- Agriculture & Agri-Food Canada
- Public Health Agency of Canada
  - LFZ - Guelph, Lethbridge

“The Federal VTEC Research Working Group”



## 多機関協カプロジェクト

- カナダ保健省
- カナダ食品検査庁
- カナダ農務・農産食品省
- カナダ公衆衛生局
  - 食品媒介性動物源性感染症研究所(LFZ):  
ゲルフ、レスブリッジ

“連邦VTEC研究作業グループ”



## VTEC Working Group Objectives

- Developing methods for VTEC detection, including non-O157 strains
- Investigating the ecology of VTEC in the food production continuum, using the methods developed
- Building a baseline on VTEC and carrying out a risk assessment
- Using the pilot-project as a practical tool to learn how to better interact and collaborate to solve national food safety issues

## VTEC 作業グループ: 目的

- 非O157株も含むVTECの検出方法を開発する。
- 開発した方法を用いて食品生産におけるVTECの生態を調査する。
- VTECのベースラインを作成し、リスク評価を実施する。
- 国の食品安全問題の解決に向けたよりよい交流・協力方法を学ぶための実用的なツールとしてパイロットプロジェクトを用いる。

## Accomplishments to-date

- Development of a core method for the recovery and detection of priority EHEC in foods (serogroups O157, O111, O26, O145 and O103)
- Development of colony blot hybridization and immunoblot methods for the presumptive identification of VTEC colonies
- Field studies on the fate of *E. coli* O157:H7 in soil and lettuce
- Identification and distribution of a core panel of reference strains
- Transfer of molecular typing tools for analysis of strains (O-Typer)
- Real-time PCR for detection of EHEC

## これまでの成果

- 食品中の優先的EHEC(腸管出血性大腸菌)、血清型O157、O111、O26、O145、O103の回収と検出のための中心となる方法を開発。
- VTECコロニーの仮同定のためのコロニーブロットハイブリダイゼーションおよび免疫ブロット法の開発。
- 土壌およびレタス中のO157大腸菌:H7の消長に関するフィールド試験。
- 参照株のコアパネルの同定と配布。
- 株分析のための分子タイピングツール(O-Typer)の移転。
- EHECの検出のためのリアルタイムPCR。

# Food Virology Program

## Research Activities:

- Virus survival, inactivation & transfer:
  - ↳ foods, surfaces, foodhandlers
- Development of rapid methods:
  - ↳ isolate, concentrate, detect viruses in foods
- Molecular characterization of foodborne viruses using DNA microarray technologies
- Surveillance, risk assessment and control of foodborne enteric viruses
- Food Environmental Virology Network, ViroNet, WHO Collaborating Centre



# 食品ウイルス学プログラム

## 研究活動:

- ウイルスの生存、非活性化、移動:
  - 食品、器具の表面、食品取扱者
- 迅速な方法の開発:
  - 食品中のウイルスの分離、濃縮、検出
- DNAマイクロアレイ技術を用いた食品媒介性ウイルスの分子特異性化
- 食品媒介性腸内ウイルスのサーベイランス、リスク評価、制御
- 食品環境ウイルス学ネットワーク、ViroNet、WHO協力センター



## Food Virology Plans

- Attachment and disinfection studies on produce
- **Novel Methods**
  - Combine knowledge of Ab/CHO/Oligos for rapid detection and typing; NoroChip
- **Data for Risk Assessment**
  - Shellfish cooking
  - Novel indicators for shellfish growing waters
  - Shellfish depuration trials
- **Test shellfish growing water for phage and human enteric viruses**

## 食品環境ウイルス学計画

- 農産物上の付着・殺菌の研究
- **新たな方法**
  - 迅速な検出とタイプ分類に関するAb/CHO/Oligos の知識を結集する: NoroChip
- **リスク評価データ**
  - 貝類の加熱調理
  - 貝類の生育する水域での新たな指標
  - 貝類の浄化実験
- **貝類の生育する水域でファージとヒトの腸内ウイルスを試験する**

I

APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, July 2009, p. 4641–4643  
0099-2240/09/\$08.00+0 doi:10.1128/AEM.00202-09  
Copyright © 2009, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Vol. 75, No. 13

## Detection of Noroviruses in Ready-To-Eat Foods by Using Carbohydrate-Coated Magnetic Beads<sup>∇</sup>

Vanessa Morton,<sup>1</sup> Julie Jean,<sup>2</sup> Jeffrey Farber,<sup>1</sup> and Kirsten Mattison<sup>1\*</sup>

*Bureau of Microbial Hazards, Health Canada, Ottawa, Ontario,<sup>1</sup> and Institut des Nutraceutiques et des Aliments Fonctionnels, Université Laval, Québec, Québec,<sup>2</sup> Canada*

Received 28 January 2009/Accepted 3 May 2009

This study used histo-blood group antigen-conjugated beads to detect norovirus (NoV) in contaminated strawberries, green onions, lettuce, and deli ham. In addition, multiple strains of NoV from genogroups I and II were recovered. This provides an effective protocol for food testing in the investigation of suspected NoV outbreaks.



I

APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, July 2009, p. 4641–4643  
0099-2240/09/\$08.00+0 doi:10.1128/AEM.00202-09  
Copyright © 2009, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Vol. 75, No. 13

## 炭水化物で被覆された磁石ビーズを使用した非加熱喫食調理済み (RTE) 食品中のノロウイルスの検出

Vanessa Morton,<sup>1</sup> Julie Jean,<sup>2</sup> Jeffrey Farber,<sup>1</sup> and Kirsten Mattison<sup>1\*</sup>

*Bureau of Microbial Hazards, Health Canada, Ottawa, Ontario,<sup>1</sup> and Institut des Nutraceutiques et des Aliments Fonctionnels, Université Laval, Québec, Québec,<sup>2</sup> Canada*

Received 28 January 2009/Accepted 3 May 2009

This study used histo-blood group antigen-conjugated beads to detect norovirus (NoV) in contaminated strawberries, green onions, lettuce, and deli ham. In addition, multiple strains of NoV from genogroups I and II were recovered. This provides an effective protocol for food testing in the investigation of suspected NoV outbreaks.



## Human Noroviruses in Swine and Cattle

Kirsten Mattison,\* Anu Shukla,\* Angela Cook,† Frank Pollari,† Robert Friendship,‡ David Relton,‡ Sabah Bidawid,\* and Jeffrey M. Farber\*

\*Health Canada, Ottawa, Ontario, Canada; †Public Health Agency of Canada, Guelph, Ontario, Canada; and ‡University of Guelph, Guelph, Ontario, Canada

[Suggested citation for this article](#)

### Abstract

Human noroviruses are the predominant cause of foodborne gastroenteritis worldwide. Strains of norovirus also exist that are uniquely associated with animals; their contribution to the incidence of human illness remains unclear. We tested animal fecal samples and identified GII.4 (bovine), GII.18 (swine), and GII.4 (human) norovirus sequences, demonstrating for the first time, to our knowledge, that GII.4-like strains can be present in livestock. In addition, we detected GII.4-like noroviral RNA from a retail meat sample. This finding highlights a possible route for indirect zoonotic transmission of noroviruses through the food chain.

## ブタとウシにおけるヒトのノロウイルス

Kirsten Mattison,\* Anu Shukla,\* Angela Cook,† Frank Pollari,† Robert Friendship,‡ David Relton,‡ Sabah Bidawid,\* and Jeffrey M. Farber\*

\*Health Canada, Ottawa, Ontario, Canada; †Public Health Agency of Canada, Guelph, Ontario, Canada; and ‡University of Guelph, Guelph, Ontario, Canada

[Suggested citation for this article](#)

### Abstract

Human noroviruses are the predominant cause of foodborne gastroenteritis worldwide. Strains of norovirus also exist that are uniquely associated with animals; their contribution to the incidence of human illness remains unclear. We tested animal fecal samples and identified GII.4 (bovine), GII.18 (swine), and GII.4 (human) norovirus sequences, demonstrating for the first time, to our knowledge, that GII.4-like strains can be present in livestock. In addition, we detected GII.4-like noroviral RNA from a retail meat sample. This finding highlights a possible route for indirect zoonotic transmission of noroviruses through the food chain.

# Integrated Enteric Pathogen Surveillance in Canada



**C-EnterNet** (PHAC) is an integrated, sentinel surveillance program designed to monitor human enteric illness and to inform food and water safety policy

**OBJECTIVES:**

- Detect changes in trends of **human enteric disease** incidence and **pathogen exposure** levels from food, animal and water sources
- **Source Attribution** – determine the proportion of human cases that are due to water, food and animals
  - Critical need to strengthen source attribution efforts in Canada and determine statistically significant risk factors for enteric illness

PHAC, 2010



# カナダにおける腸内病原体を対象とした統合的サーベイランス



**C-EnterNet** (公衆衛生局)は、ヒトの腸疾患をモニターし、食品・水の安全政策の考え方を広く知らせるための統合的な定点サーベイランスプログラムである。

**目的:**

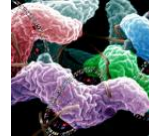
- ヒトの腸疾患の発症傾向および食品、動物、水源からの病原体への暴露レベルの変化を検知する。
- **感染源の寄与度:** 水、食品、動物を感染源とするヒトの発症例の割合を決定する。
  - カナダにおける感染源の寄与度解明の取組の強化、腸疾患の統計学的に有意なリスク要因の決定が極めて必要とされている。

公衆衛生局, 2010



## Laboratory -Target Pathogens

- *Salmonella* spp.
- *Campylobacter*
- *E. coli* O157
- *Shigella* spp.
- *Yersinia enterocolitica*
- *Giardia*, *Cryptosporidium*  
*Cyclospora*
- *Listeria monocytogenes*
- Norovirus, rotavirus



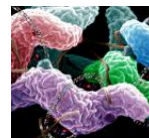
- Speciation
- Serotyping
- Phagetyping
- AMR
- PFGE
- Genotyping



PHAC, 2010

## 検査施設: 目標とされる病原体

- サルモネラ属菌 (*Salmonella* spp.)
- カンピロバクター (*Campylobacter*)
- 大腸菌 (*E. coli*) O157
- 赤痢菌 (*Shigella* spp.)
- エルシニア菌 (*Yersinia enterocolitica*)
- ジアルディア (*Giardia*)、クリプトス  
ポリジウム (*Cryptosporidium*  
*Cyclospora*)
- リステリア菌 (*Listeria monocytogenes*)
- ノロウイルス、ロタウイルス

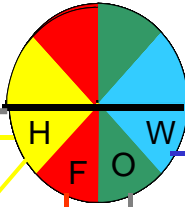


- 種形成
- 血清型別
- ファージ型別
- 抗菌剤耐性
- PFGE
- 遺伝子型別

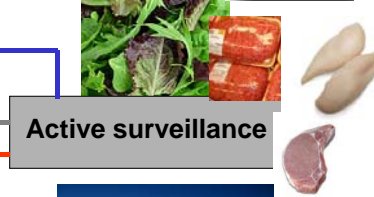


公衆衛生局, 2010

# C-EnterNet Components



Standardized risk factor questionnaire  
Enhanced lab based surveillance

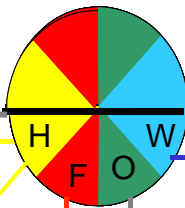


Active surveillance



PHAC, 2010 Santé Canada Health Canada

# C-EnterNetの構成



標準化されたリスク要因アンケート  
強化された検査ベースのサーベイランス

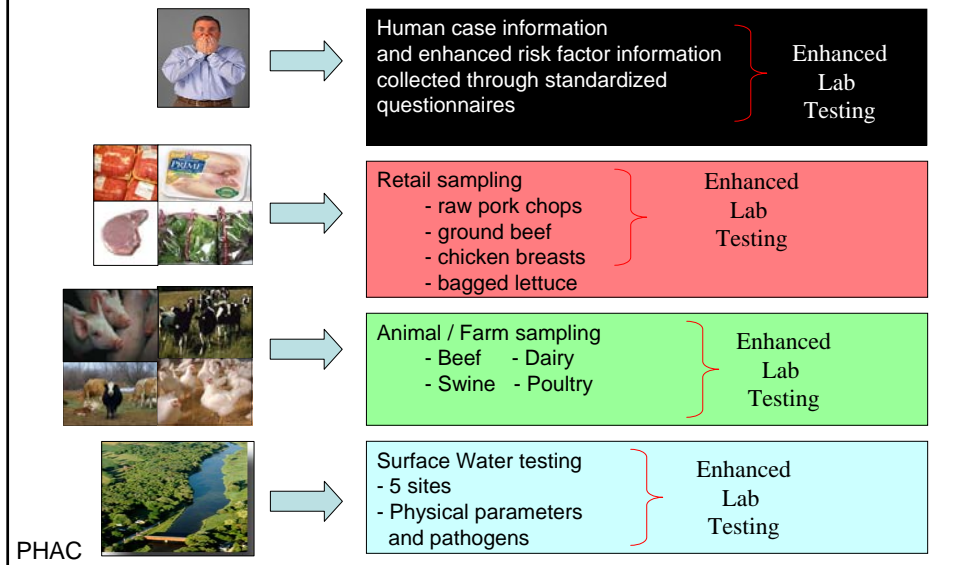


能動的サーベイランス

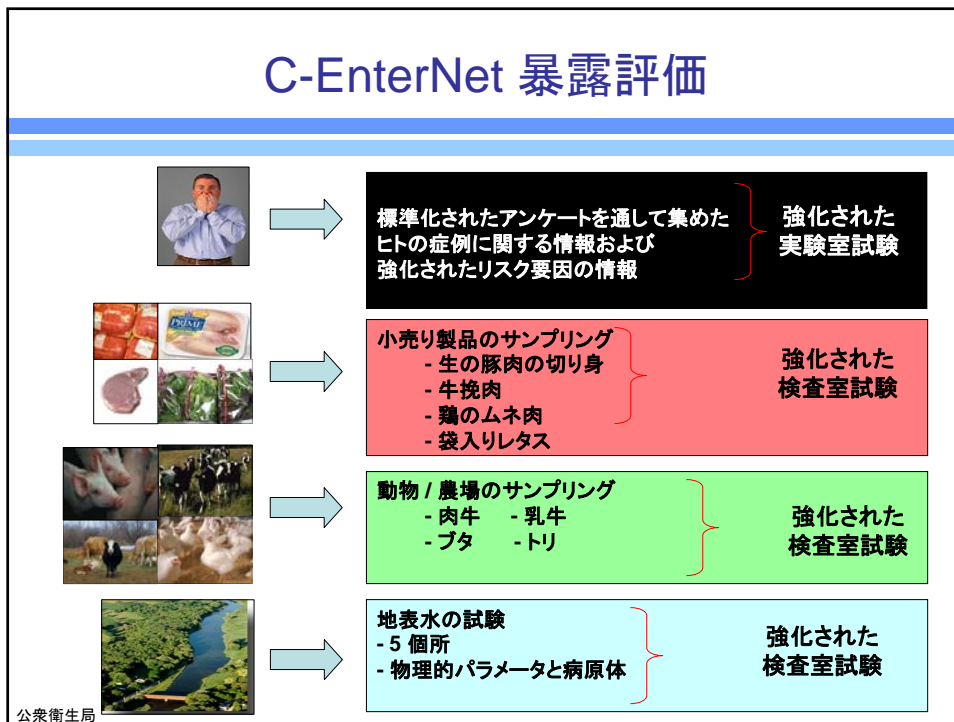


公衆衛生局, 2010 Santé Canada Health Canada

# C-EnterNet Exposure Assessment



# C-EnterNet 暴露評価



# C-EnterNet Moving Forward

## 2010 and beyond

- Continued surveillance in Sentinel Site 1
- Expansion to 2<sup>nd</sup> site – British Columbia
- Targeted research – Healthy Controls study, Travel paper
- Source Attribution



PHAC, 2010



# C-EnterNetの前進

## 2010年以降

- 「定点サイト1」での継続的サーベイランス
- 2つ目のサイトへ拡大：ブリティッシュコロンビア州
- ターゲット研究：Healthy Controls（健康対照者）研究、トラベルペーパー
- 感染源の寄与度



公衆衛生局, 2010



***Cronobacter* spp. - Advice,  
Policy and Research in  
Canada**

クロノバクター  
－ カナダにおける助言、政策、研究

## Powdered Infant Formula (PIF) in Canada

- Used to have 5 or 6 plants manufacturing PIF
- At present, none left and we import all PIF
- Nevertheless, PIF safety is an important issue for Canada

## カナダの乳児用調製粉乳(PIF)

- かつては、5～6つのPIF製造工場があった
- 現在は現存しておらず、すべてのPIFを輸入
- しかし、カナダにとってPIFの安全性は重要

## Codex Committee on Food Hygiene

- In 2003, the Codex Committee on Food Hygiene (CCFH) requested a revision of the *Recommended International Code of Hygienic Practice for Foods for Infants and Children* (1979)
- The CCFH requested:
  - Canada to initiate work towards the revision of the Code with the help of a drafting group;
  - *Code of Hygienic Practice for Powdered Formulae for Infants and Young Children*
- Two FAO/WHO Expert Group meetings were held in 2004 and 2006 on *E. sakazakii* and other microorganisms in PIF



## コーデックス委員会食品衛生部会

- 2003年、コーデックス委員会食品衛生部会(CCFH)は、「乳児用調製粉乳の安全な調乳、保存及び取扱いに関するガイドライン」(1979年)の改訂を要請
- 要請項目:
  - カナダは、起草グループの助力を得てガイドラインの改訂に向けた作業を開始すること;
  - 乳児用調製粉乳の安全な調乳、保存及び取扱いに関するガイドライン
- PIF中の*E. sakazakii*と他の微生物に関して、2回にわたるFAO/WHO 専門家会議が開催(2004年、2006年)



## CCFH - Code of Hygienic Practice for Powdered Formulae for Infants and Young Children

- ✓ Code was completed in 4 years
- ✓ Has helped contribute to an improvement in the hygienic conditions in plants manufacturing PIF
  - ✓ Microbiological criteria
  - ✓ “Safe preparation, storage and handling of PIF”
  - ✓ Used the RAs to help develop the Code
  - ✓ Web-based risk assessment tool

## CCFH –乳児用調製粉乳の安全な調乳、保存及び取扱いに関するガイドライン

- ✓ ガイドラインの改訂は4年で完成
- ✓ PIF製造工場の衛生状態の改善に貢献に役立った
  - ✓ 微生物学的基準
  - ✓ “PIFの安全な調製、保管、出荷”
  - ✓ ガイドラインの整備にリスク評価を活用
  - ✓ Webベースのリスク評価ツール

## Health Canada: GMPs for Infant Formula Purpose

- The purpose of this document is to establish and document the current GMP's for production & quality control of infant formula products manufactured or imported for sale in Canada

## カナダ保健省：乳児用調製乳のためのGMP

- この資料の目的は、  
カナダ国内での販売目的で国内生産  
あるいは海外から輸入された乳児用調製乳を  
生産・品質管理するためのGMPを  
設定し文書化すること

## Current Microbiological Criteria for PIF in Canada

Method	Guideline	Sampling Plan Parameters			
		n	c	m	M
MFHPB-18	ACC	5	2	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>
MFHPB-19	<i>E. coli</i>	10	1	<1.8	10 <sup>1</sup>
MFHPB-20	<i>Salmonella</i>	20	0	0	0
MFHPB-21	<i>S. aureus</i>	10	1	10 <sup>1</sup>	10 <sup>2</sup>
MFLH-42	<i>B. cereus</i>	10	1	10 <sup>2</sup>	10 <sup>4</sup>
MFHPB-23	<i>C. perfringens</i>	10	1	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>

## カナダにおけるPIFの現行の微生物学的基準

方法	ガイドライン	サンプリング計画におけるパラメータ			
		n	c	m	M
MFHPB-18	好気性細菌数	5	2	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>
MFHPB-19	<i>E. coli</i>	10	1	<1.8	10 <sup>1</sup>
MFHPB-20	<i>Salmonella</i>	20	0	0	0
MFHPB-21	<i>S. aureus</i>	10	1	10 <sup>1</sup>	10 <sup>2</sup>
MFLH-42	<i>B. cereus</i>	10	1	10 <sup>2</sup>	10 <sup>4</sup>
MFHPB-23	<i>C. perfringens</i>	10	1	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>

## Proposed Microbiological Criteria for PIF in Canada

Table 2. Proposed Microbiological Criteria for Powdered Infant Formula.

FOOD CATEGORY	METHOD	GUIDELINE	NATURE OF CONCERN	SAMPLING PARAMETERS			
				n	c	m	M
Powdered Infant Formula <sup>A</sup>	MFHPB-18	<i>A.C.C.</i> <sup>B</sup>	HR 3	5	2	500/g	5000/g
	MFLP-09 MFLP-43	<i>Enterobacteriaceae (EE)</i> <sup>C</sup>	HR 3	10	2	0/10g	0
	MFHPB-20	<i>Salmonella</i> <sup>D</sup>	HR 1	60	0	0/25g	0
	ISO/TS 22964	<i>Enterobacter sakazakii</i> ( <i>Cronobacter</i> spp.) <sup>E</sup>	HR 1	30	0	0/10g	0



## カナダにおけるPIFの提案された微生物学的基準

表2 乳児用調製粉乳について提案された微生物学的基準

食品分類	方法	ガイドライン	懸念の性質	サンプリングにおけるパラメータ			
				n	c	m	M
Powdered Infant Formula <sup>A</sup>	MFHPB-18	好気性細菌数	健康リスク3	5	2	500/g	5000/g
	MFLP-09 MFLP-43	<i>Enterobacteriaceae (EE)</i> <sup>C</sup>	健康リスク3	10	2	0/10g	0
	MFHPB-20	<i>Salmonella</i> <sup>D</sup>	健康リスク1	60	0	0/25g	0
	ISO/TS 22964	<i>Enterobacter sakazakii</i> ( <i>Cronobacter</i> spp.) <sup>E</sup>	健康リスク1	30	0	0/10g	0



## Surveillance in Canada

- At present, there is no active or passive surveillance systems for *C. sakazakii*
- Number of reported cases of *C. sakazakii* in Canada is very small
- Three cases of illness due to *C. sakazakii* reported in 1991/1992
- One case of meningitis due to *C. sakazakii* reported in 2007; occurred in one of the twins

## カナダでのサーベイランス

- 現在、*C. sakazakii*に対する能動・受動的サーベイランスは行なわれていない。
- カナダでの*C. sakazakii*による報告症例数は非常に少ない。
- *C. sakazakii*の発症例は、3例が1991～1992年に報告されている。
- *C. sakazakii*による髄膜炎は1例が、2007年に報告されている。これは、双子のうちの片方で発生した。

# Research Themes

- **Genotypic characterization**
  - PFGE
  - Ribotyping
  - Bioinformatics (MLST, 16S rRNA)
- **Phenotypic assessment**
  - Isolation media (e.g., chromogenic agars)
  - Physiology (e.g., capsule production)
- **Pathogenicity**
  - In-vivo, using non-primate animal models
  - In-vitro, using blood-brain barrier cell lines
  - Production of enterotoxin(s)

# 研究テーマ

- **遺伝子型解析**
  - パルスフィールド・ゲル電気泳動
  - リボタイピング
  - バイオ・インフォーマティクス (MLST分析、16S rRNA)
- **表現型の評価**
  - 分離培地 (例; 発色性寒天培地)
  - 生物学的 (例; 夾膜形成)
- **病原性**
  - *In-vivo*、霊長類以外の動物モデルを用いて
  - *In-vitro*、血液-脳関門細胞を用いて
  - エンテロトキシンの産生

## WHO/FAO Guidelines

### *Safe preparation, storage and handling of powdered infant formula*

- Provide recommendations for the safe preparation, storage and handling of PIF in care settings and homes
- Covers general aspects of cleaning and sterilization of feeding and preparation equipment, and safe preparation of PIF
- Printed in four booklets targeting different groups (managers of organizations serving infants, home settings using bottles/cups, care settings)
- Sterile liquid infant formula is recommended for infants at highest risk of infection
- Preparation of PIF should be with water at a temperature no less than 70°C
- Minimizing the time from preparation to consumption and storage at temperatures no higher than 5°C for a maximum of 24h significantly reduce the risk

## WHO/FAO ガイドライン

### *乳児用調製粉乳の安全な調製、保存、取り扱い*

- 看護施設および家庭での乳児用調製粉乳の調製・保存・取り扱いに関して、提言を提供する。
- 対象範囲は、食品の摂取・準備用器具の洗浄と滅菌に関する一般的な側面、および乳児用調製粉乳の安全な準備である。
- 異なるターゲット向けに、4種類のパンフレットに印刷されている(乳児に対してサービスを提供する組織・機関の管理者、ほ乳瓶・コップを使用する家庭という設定、看護施設)。
- 感染リスクが最も高い乳児に対しては、無菌の液状乳児用調製粉乳が推奨される。
- 乳児用調製粉乳の準備には、70°C以上の湯を用いるべきである。
- 準備から消費までの時間を最小限にとどめ、5度以下で保存、保存は24時間以内にとどめることで、リスクを有意に減少させることができる。

## Guidelines for the Safe Preparation, Storage and Handling of PIF

- The FAO/WHO guideline was developed to be a generic document that can provide guidance for countries and governments
- Health Canada has adapted and condensed the FAO/WHO guidelines to develop a guidance document on the preparation and handling of PIF in home and hospitals/care settings

## 乳児用調製粉乳の安全な 調製・保存・取り扱いに関するガイドライン

- FAO/WHOガイドラインは、各国政府のガイダンスとしての一般的な文書となるべく作成された。
- 家庭および病院・看護施設における乳児用調製粉乳の調製・取り扱いに関するガイドラインの作成に際して、カナダ保健省はFAO/WHOのガイドラインを採用し簡略化を図った。

## Guidelines for the Safe Preparation, Storage and Handling of PIF

- The PIF Guidance Document was initially reviewed by members of FPT Group on Nutrition, and health professionals in Ontario
- Consultation with health professionals across Canada in 2008
- The PIF Guidance Document was sent to over 10 companies involved in the manufacturing and sale of PIF in Canada
- Once finalized, the PIF Guidance Document will be published on Health Canada's website
- The Guidance Document can be used to educate parents, caregivers and staff in hospitals and day-care centres on the potential hazards associated with PIF products



## 乳児用調製粉乳の安全な 調製・保存・取り扱いに関するガイドライン

- 先ず、連邦・州・準州の栄養グループおよびオンタリオの医療関係者による乳児用調製粉乳ガイダンス文書の対するレビューが行われた。
- 2008年、カナダ全土の医療関係者を対象にコンサルテーションが行なわれた。
- この乳児用調製粉乳ガイダンス文書は、カナダで同粉乳を製造・販売する10社以上の企業に送付された。
- 最終取りまとめ後に、この乳児用調製粉乳ガイダンス文書はヘルスカナダのホームページ上で公表される予定である。
- このガイダンス文書は、親・養育者・病院や保育所のスタッフに対して乳児用調製粉乳に関する潜在的ハザードの教育を行なうために用いることが出来る。



## PIF Recommendations in Canada

Recommendations when using PIF in the Home or in the professional setting (i.e., hospitals and day-care centres):

- For **pre-term and low birth-weight infants under 2 months of age or immunocompromised infants**, water used for preparing PIF should be brought to a rolling boil for 2 min, dispensed into containers of a maximum size of 1L, and cooled down to no less than 70° C before adding the powder
- For all other infants previously boiled water that has been cooled to room or body temperature (37° C) can be used to prepare PIF, but it should be served immediately to the infant
- It is best to prepare and serve PIF immediately after cooling to body temperature
- If it not possible to serve immediately, all prepared formula in bottles or other types of containers should be refrigerated at 4° C or lower immediately after the powder has been added and dissolved in water
- The prepared formula should be used within 24 hours



## カナダにおける乳児用調製粉乳に関する提言

乳児用調製粉乳を家庭もしくは専門機関(例:病院、保育所)で使用する際の提言:

- **未熟児、2ヶ月齢未満の低体重の乳児、もしくは免疫不全の乳児のため**に乳児用調製粉乳を準備する場合、湯は沸騰状態で2分以上経過したものを容器中に最大1Lの容量で用い、湯が冷めてから調製粉乳を加える際にも、その湯温は70°C以上でなければならない。
- その他の乳児においては、沸騰させた後に室温もしくは体温(37°C)まで冷ました湯を調製粉乳に使用する事ができる。ただし、調製後ただちに乳幼児に与えること。
- 乳児用調製乳は、体温にまで冷ました後、直ちに使用するのが最善である。
- すみやかな使用が不可能な場合、調製粉乳は水に加えて溶解されたら直ちに瓶などの容器に入れ、4°C以下で冷蔵されるべきである。
- 調製乳は準備後、24時間以内に使用するべきである。

