＝教育講演＝

微生物制御への予測モデルの活用

小 関 成 樹

((独)農研機構食品総合研究所)

Application of Predictive Models for Microbial Control in Foods

Shigenobu KOSEKI

(National Food Research Institute, Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 305-8642)

はじめに

食品における微生物挙動を数理モデルにより記述し、殺菌効果の予測⁴⁾、腐敗の予測³⁷⁾に活用する試みは古くから検討されている。予測微生物学(Predictive microbiology)の単語の使用は1980年代にすでに始まっており²²⁾、1990年代以降、急速にその研究範囲が拡張され、現在も発展し続けている。しかしながら、これら研究成果は欧米各国をはじめとする諸外国での研究成果であり、日本での取り組みは限られている。本稿では予測微生物学の基本的な概念から、実際の応用例までを最近の発展と併せて概説する。

すでに欧米では予測微生物学に関するいくつかの成書が発刊されており^{5, 19, 23, 31)}、まとまった知識を得るための好材料となっている。また、主要な国際学術雑誌を検索すれば、予測モデル関連の論文はほぼ毎号掲載されている。本稿ではこれまでの予測微生物学研究の流れと今後の発展方向を把握するために、以下の4点について述べる。

1. 増殖/死滅モデルの基本概念
2. 予測モデルの応用例
3. 最近のモデル開発の傾向
4. 食品加工・流通への適用

1. 増殖/死滅モデルの基本概念

微生物の時間変化に伴う増殖あるいは死滅を表現するための数理モデルの構築はいくつかの段階に分けられる。はじめに、増殖曲線あるいは死滅曲線を表現するための‘Primary’モデルが適用される。‘Primary’モデルは増殖曲線あるいは死滅曲線のパターンを記述するためのモデルである。代表的な‘Primary’モデルとしては古くはロジスティック式やゴンペルツ式、その後、微分方程式を基盤としたBaranyiモデル²⁾やFujikawaモデル⁹⁾が挙げられる。当然のことながら各種の条件が異な

図1. 培養温度の違いが増殖に及ぼす影響

れば増殖/死滅パターンは異なってくるが、‘Primary’モデルはその数式中の係数を変化させることによって種々の条件での曲線を描くことになる。ここでは異なる培養温度における増殖曲線を例に解説する(図1)。培養温度の上昇に伴い、最大増殖速度(対数増殖期の直線性を示す部分の傾きに相当)が大きくなっていくことが分かる。このように、環境条件の違いによって描く曲線の形は異なるが、基本となるパターンは‘Primary’モデルとして記述され、その数式中の係数が変化することになる。

次に、‘Primary’モデルから得られた条件ごとの係数とその環境条件との関係を何らかの関係式で表すことになる(‘Secondary’モデル)。一例として図1から得られた最大増殖速度と温度との関係を図2に示す。この関係を記述するモデル式としてはさまざまなモデルが提案されているが、ここではRatkowskyの平方根モデルを適用する³³⁾。一例として温度のみの影響をモデル化しているが、当然のことながら微生物の増殖には他の環境要因、例えばpHや食塩濃度(水分活性)、有機酸濃度など、が影響するが、これらの影響についても各々、さらに複合的な影響を考慮したモデルがさまざまに提案されている³⁶⁾。最近の報告では温度、pHをはじめとする12

図2. 増殖速度と温度との関係を表す Ratkowsky の平方根モデルの例

もの環境要因を含んだ増殖速度モデルが提案され、大規模な検証も行われている²⁵⁻²⁷⁾。ほかにもさまざまな環境要因を組み込んだ予測モデルが開発されており、ユーザーの選択肢は多岐にわたる。詳しくは成書を参照していただき³⁶⁾、目的に応じて使い分けていくことが重要である。このように、各種の環境要因を変数としてモデルに組み込むといった手法でモデル開発が行われてきているが、実際の食品の組成は多岐にわたり、抽象化した環境要因だけで的確に予測できるとは限らない。そのため、実際の適用に際しては検証が不可欠である。さらには、実際の対象となる食品でのモデル構築もまた実用的には有効な手法である。

ここでは増殖モデルを例にして解説したが、死滅曲線においても同様に‘Primary’モデルから係数を抽出して環境条件の依存性を表す‘Secondary’モデルを構築することが可能である³¹⁾。

2. 予測モデルの応用例

2.1 予測ソフトウェアの展開

開発した予測モデルを有効活用するために各種の予測ソフトウェアが開発されている。1990年代前半には米国、英国において大規模な国家プロジェクトとして細菌増殖予測ソフトウェアの開発が進められた。米国では現在も開発が続けられている無償のソフトウェア Pathogen Modeling Program (PMP) が開発された⁶⁾。一方で、英国では Food MicroModel (FMM)¹⁸⁾ が開発され、商用パッケージとして販売されていた。その後、本ソフトウェアは Growth predictor として無償提供されるようになっている。上記のような予測微生物学に関する研究成果が蓄積されるにつれて、同様の菌種を用いて試験しているにもかかわらず、その挙動に差異があることが明らかとなってきた。これは菌株の違いや細菌の生育ステージの違いなど原因は種々考えられるが、最も重要なことは細菌の挙動はばらつきが大きいことを実際のデータを通して認識することにある。このような思想のもとに、英国、米国が協力体制を整えて、それぞれが開発し

た PMP や FMM といった予測ソフトウェアに収録されている細菌挙動データを統合し、データベースとして Web 上で 2003 年から ComBase (コンベース <http://www.combase.cc>) という名前で公開し始めている³⁾。さらに 2006 年には豪州タスマニア大学の食品安全センターも加わり、データベースの拡充が続いている。このデータベースの公開によって、世界中の人々が容易に微生物挙動データを検索収集することが可能となってきている。

2010 年 7 月現在、ComBase に収録されているデータ数は、病原性細菌と腐敗細菌合わせて、50,474 レコードである。その比率は 8 割が病原性細菌のデータである。目的とする細菌の種類、温度、pH、水分活性(食塩濃度)、さらには食品の種類を選択することで、対象となる細菌の増殖/死滅の経時変化データを検索することができる。Web 上での検索、閲覧に加えて、必要に応じてデータをダウンロードして二次利用が可能である。ComBase に収録されているデータはすべて時間変化に伴う、細菌数の常用対数値 ($\log_{10}$ CFU/g or ml) であり、検索情報には菌数データのプロットと生データ、出典元、実験方法の詳細などが収録されている。ComBase で最も有効性の高い部分は、多菌種 (29 種) の挙動データを網羅的に検索収集できる点である。また、検索条件として、菌種、温度条件、pH 条件、水分活性条件(塩分濃度)等の条件に加えて、実際の食品におけるデータを絞り込むこともできる。

一方で、加工食品の製造・流通条件の設定においては、細菌を増殖させない条件設定が求められることが多く、増殖曲線を得ることよりもむしろ環境条件の組合せによって対象とする細菌を増殖させないための条件を見いだすことが重要である。対象とする細菌の増殖/非増殖条件を検索可能とするデータベースがより多くの食品企業にとって重要な役割を果たすことが予想される。そこで、筆者らは細菌の増殖/非増殖データを ComBase に収録されているデータから抽出して、データベース化することを考えた。さらに、増殖/非増殖データに加えて、環境条件における対象となる細菌の増殖速度の情報を等高線化したグラフで表現して、増殖/非増殖グラフと一体化して提供情報量を増大させた。そして、この増殖/非増殖データと増殖速度データとをデータベース化することで、容易に必要な情報を得られるようにした。このような思想に基づいて開発したのが、MRV (Microbial Responses Viewer) である¹³⁾。MRV では現在 16 種類の細菌に対して温度、pH、水分活性の各要因の組合せにおける増殖/非増殖条件を検索することができるだけでなく、増殖の速さ(速度)に関する情報も同時に検索できる。MRV は食品業界が求める細菌を増殖させないための境界条件の環境条件を直接的に検索可能とする(図3)。さらに、MRV の特徴として、目的とする情報を容易に検索できるように、直感的、視覚的に情

図3. MRVによる検索結果画面の例（大腸菌の培地環境におけるデータ）等高線グラフ上（青：増殖速度低→黄：増殖速度高）でのポイントの動きに追従して増殖曲線をリアルタイムに描画、各ポイントをクリックで時間変化データを参照

報を見いだすことができるような設計となっている。今後、MRVが食品業界における微生物制御のための基本情報を提供する基盤へと発展させることを目指している。

諸外国における研究、実用化への取り組みについて見てみる。豪州においては2005年から輸出用牛肉の品質管理規格基準の中に、細菌数の増殖予測が適用され始めた¹⁾。具体的には流通保管中の温度履歴から大腸菌数を推定するRefrigeration Index Calculatorと呼ばれるシステムを構築して、運用している。これは国家レベルでの規格であり、極めて重要な役割を果たしている。この規格導入による経済的な効果も試算されており、大きな効果をもたらすと推定されている²⁰⁾。

フランスにおいても独自のSym'Previus (<http://www.symprevius.net/>) という予測ソフトウェア、およびデータベースを開発して公開している。開発当初は国家プロジェクトとして進められたが、その後は民間企業が管理している。大きな特徴としては、時間変化に伴う菌数変化予測だけでなく、各種環境条件の組合せから、細菌の増殖限界条件を予測する機能を有する点である。実用場面を考慮して、各種食品データを中心に開発が行われているが、本ソフトウェアは有償である。

デンマークでは早くから予測モデルを活用した魚介類の腐敗予測ソフトウェアの提供を行っている。Seafood

Spoilage and Safety Predictor (SSSP: <http://sssp.dtuqua.dk/>) の名称で無償配布されているソフトウェアは着実に開発が進められており、2010年7月現在バージョン3.1であり、スモークサーモン等の食品上でのリステリアの増殖予測やヒスタミン生成量の予測なども可能となっており、水産物を扱う事業者にとっては極めて有益な手法が提供されている。また、ユーザー自身の温度履歴データを読み込ませて、細菌の増殖予測を可能としており、先進的な取り組みといえる。

以上のように、世界各国では国家レベルで着実に研究成果を蓄積して、それらをソフトウェアやデータベースといった目に見える形にまで発展させている。

2.2 予測微生物学のハードウェア開発

各種予測ソフトウェアの開発に加えて、実用上重要なのは各種環境条件の変化をモニタリングするためのハードウェア（測定機器類）の開発である。代表的な例としては温度履歴から積算温度を算出して、保存限界を提示するTime temperature integrator (TTI) がある。従来のTTIは化学反応に基づくものが大部分であったが、近年では微生物の増殖を利用した生物学的なものの開発も盛んに行われてきている。フランスのCryolog (<http://www.cryolog.com>) では乳酸菌の増殖に伴う培地pHの変化を利用したTTIを開発している。また、ITを活用した電磁波認識個別タグ(RFID)の利用が現場レ

ベル検討されている。豪州で提案されている SmartTrace™ (<http://www.smart-trace.com/>) が *adhoc* ワイヤレスネットワークを活用した先駆的な例である。このような技術の発達によって、コールドチェーンのより高度な管理を可能とし、食品の微生物学的安全性の確保をより高いレベルで可能とする。実用レベルでの報告例はドイツ、ボン大学が主催するコールドチェーンマネージメントのワークショップで多く見られ、詳しくはウェブサイト (<http://www.ccm.unibonn.de/>) で確認できる。

3. 最近のモデル開発の傾向

従来、微生物の増殖/死滅の予測モデルといえば、時間変化にともなう微生物数の変化を記述するものを示していた。従来の時間変化に伴う予測モデルは比較的短い時間内での予測は高精度で行うことができるが、生育環境が至適条件から離れて、増殖速度が小さくなってくると、微生物集団内における個々の細胞の挙動の違いが顕著に現れるようになり、結果としてばらつきが大きくなり予測精度が低下する。このようなばらつきは微生物の特性に由来するもので、Variability (変動性) としてとらえられる。変動性はいくら実験を繰り返しても減じることはできないが、データ取得のための実験に伴うばらつきは、実験を繰り返すことによって、あるいは測定機器の性能向上などによって減じることが可能である²¹⁾。このようなばらつきは Uncertainty (不確実性) として認識され、変動性と不確実性とは区別して議論することがリスク評価の分野では特に強調されている^{29, 30)}。変動性は減じることができないので、従来の決定論的なモデル化手法では対応は困難であり、必然的にモデル開発も確率論的な手法へと移行しつつある。その一例が増殖/非増殖境界モデルである (図4)。温度、pH、水分活性などの環境要因をパラメータとして、それらの組合せ条件において対象とする微生物が増殖するのか、増殖しないのかといった確率事象としてとらえ、モデル化する手法

である³⁴⁾。このモデル化手法はハードル理論として知られる微生物増殖を制御するための環境条件の組合せ¹⁷⁾を直接的に、かつ確率として提示することができ、HACCPのCCP条件設定に対して科学的な根拠を与えることを可能とする。この増殖/非増殖モデルは最近ではSSSPやMRVといった各種のソフトウェア内でも利用可能となりつつある。

また、上述の経時変化モデルや確率論的なモデルとは異なるものとして、調理機器表面への付着汚染、さらには二次汚染に関する予測モデル開発も行われている^{28, 35, 38)}。食中毒の原因調査、さらにはリスク評価においては、機器表面からの二次汚染を推定することは極めて重要であり、今後この種の予測モデルの開発も活発化していくものとみられる。

予測モデルの開発には基礎となるデータが必要不可欠である。データの収集には新たに実験を行う、あるいは過去の文献からデータを抽出するといった方法がある。前述したように、微生物の挙動において変動性は不可避であることから、単一の実験からのデータだけからのモデル開発では不十分である。実用に耐える予測モデルの開発には種々の異なる実験データを用いて十分な検証を施す必要があるが、その際に文献データは重要な役割を果たすことになる。最近では大規模なモデルの検証が行われるようになり、予測モデルの妥当性がより客観的に評価されるようになってきている²⁷⁾。また、特に医学分野で発達してきた文献データの活用手法として、メタアナリシスがあるが、最近ではメタアナリシスの手法を導入した体系的かつ客観的な解析手法が導入されるようになり、これまで以上に文献データの果たす役割は大きくなると考えられる^{10, 24, 39, 40)}。このように、文献データの重要性が高まってくると、データの収集をいかに効率的に実施するかが鍵となるが、その際に大いにその威力を発揮するのがWeb上のデータベースである。その中でも、微生物挙動データに特化したComBaseやそれに付随するMRVは今後その役割が大きくなるものと予想される。

4. 食品加工・流通への適用

近年、食品の微生物学的な安全性を確保するために、Food Safety Objectives (FSOs) という考え方が導入されつつある。FSOsとは「摂食時点での食品安全目標値」のことである。具体的には、摂食時点の食品中の危害要因の汚染頻度と濃度で、公衆衛生上の観点から許容可能な最大値のことを意味する。例を挙げると、「FSO=*L. monocytogenes* は調理済み食品摂食時に100 CFU/gを超えないこと」、といった具体的な許容限界を数値として示すものである¹²⁾。また、消費に至るまでの製造工程ごとに設定される基準、例えば「加熱殺菌工程では5桁の菌数減少が必要」といった基準のことをPerformance Objectives (POs) と呼び、これらPOの積み重ねで

図4. 温度とpHとの関係における細菌の増殖/非増殖境界モデルの一例 (○増殖, ●非増殖, —境界線)

FSO を達成するように食品の製造流通条件が設計される。この PO を満たすための条件設定において、殺菌予測モデルは必要不可欠となっている。従来の殺菌予測モデルは時間変化に伴う細菌数の減少曲線を適切な数式で記述するものであった。殺菌処理における細菌数の減少曲線はおおむね以下のように分類される。片対数グラフ上で直線的な減少を示すパターン (linear 型)、処理開始直後は減少が緩やかで、その後急速な減少を示すパターン (shoulder 型)、処理開始直後に急激な減少を示し、その後緩やかな減少に移行するパターン (tailing 型) および S 字曲線を描くパターン (sigmoid 型) の大きく 4 種類である。このような非線形な曲線を記述するために、Weibull 関数が頻繁に用いられ、良好な精度で記述できることが報告されているが³²⁾、非線形なモデルから必要とする桁数減少時間を推定することは、従来の片対数グラフ上で直線的な減少を示す linear 型から導出される D 値を基本とする計算手法とは大きく異なり容易ではない。コンピュータの発達によって計算の複雑化は深刻な問題にはならないが、微生物挙動で問題となるばらつきを考慮して、必要とする殺菌条件を見いだすことは難しい。さらに、従来の殺菌モデルは高濃度 ($\sim 10^9$ CFU) に設定した初期菌数からの減少をモデル化し、必要とする桁数減少を計算しようとしていたが、現実にはこのような高濃度に汚染された食品を殺菌することは皆無である。FSO の概念が導入されつつある状況において、より現実に即した予測が求められる。

このような背景から、近年異なるアプローチでの殺菌効果予測モデルが提案されている。豪州の Bull らは生存時間分析の手法を適用して必要とする殺菌時間を推定する手法を提案している⁷⁾。また筆者らはロジスティック回帰分析手法を用いて種々の殺菌条件を組み込むことが可能で、殺菌の確実性をも考慮することのできる殺菌予測モデルを開発した^{15, 16)}。図 5 に示すように、これらのモデルは直接的に必要とする桁数減少を求めることが

図 5. ロジスティック回帰分析手法を適用した生存/死滅境界モデルの予測結果の例

でき、PO を達成するための条件設定に合致した手法であり、食品製造条件設定に貢献することが期待される。

FSO, PO の概念を用いることで、より論理的に殺菌条件や消費期限を設定することが可能となるであろう。近年、FSO の概念が用いられるようになってから、予測モデルの活用の仕方が明確になってきており、予測モデルの種類と精度に対する要求は今後ますます高まっていくことが予想される。FSO の考え方をを用いた具体的な計算例は別の解説を参照いただきたい¹⁴⁾。

5. 現状の課題と今後の展望

現在、提案されている予測モデルはすべての食品へ適応できるわけではない。食品の種類は多岐にわたり、さらにその組成も製造業者毎に異なる。したがって、モデルを使う際には、モデルの予測性能の限界をよく理解した上で、必要に応じて補正をしていく必要がある。本稿では予測モデルの実用性を中心に概説したが、微生物挙動を数理モデル化することの意義は単に応用面を意識したものだけではなく、食品という閉鎖的な環境中での微生物の生態を明らかにして、それを説明するための手法としてもとらえることができ、基礎的な研究においても重要といえる²¹⁾。このことは近年特に強調されるようになっており、環境微生物学者らも注目している¹¹⁾。従来、定性的で記述的な学問分野であった微生物学を定量的な学問へと発展させるための道具として予測モデルの果たす役割は重要であると指摘している。このことは、植物生態学や動物生態学といった他の学問分野でも数理モデルを用いて現象の説明を定量的に行うことが活発化していることから示唆される⁸⁾。今後ますます複雑化していくことが予想される食品 (原材料を含む) の世界的な流通において、食品の安全性 (ここでは微生物学的安全性を想定) を確保していくためには、世界中の人々が共通的な認識を持つ必要があり、そのための手段の一つとして定量化された数値を用いての議論の重要性が増大していくであろう。食品における微生物汚染の定量化、数値化を実現するための手段として各種の数理モデルの果たす役割は今後大きくなっていくものと考えられる。そのためには食品微生物学者だけでなく、他の分野の研究者、技術者等との連携を強化していくことが今後の発展には必要不可欠であろう。

文 献

- 1) Australian Quarantine Inspection Service (AQIS): Export control (meat and meat products) orders 2005. p. 89. Office of Legislative Drafting and Publishing (OLDP), Canberra (2005).
- 2) Baranyi, J. and Roberts, T. A.: A Dynamic Approach to Predicting Bacterial-Growth in Food. Int. J. Food Microbiol., **23**, 277-294 (1994).
- 3) Baranyi, J. and Tamplin, M. L.: ComBase: A common database on microbial responses to food environ-

- ments. J. Food Prot., **67**, 1967–1971 (2004).
- 4) Bigelow, W.D.: The logarithmic nature of thermal death time curves. J. Infect. Dis., **29**, 528–536 (1921).
- 5) Brul, S., van Gerwen, S. and Zwietering, M.: Modelling microorganisms in food. p. 1–320. CRC Press, Boca Raton, USA (2007).
- 6) Buchanan, R. L.: Developing and distributing user-friendly application software. J. Indust. Microbiol., **12**, 251–255 (1993).
- 7) Bull, M. K., Szabo, E. A., Cole, M. B. and Stewart, C. M.: Toward validation of process criteria for high-pressure processing of orange juice with predictive models. J. Food Prot., **68**, 949–954 (2005).
- 8) Clark, J. S.: Models for Ecological Data: An Introduction. p. 1–350. Princeton University Press, Princeton, USA (2007).
- 9) Fujikawa, H., Kai, A. and Morozumi, S.: A new logistic model for *Escherichia coli* growth at constant and dynamic temperatures. Food Microbiol., **21**, 501–509 (2004).
- 10) Gonzales-Barron, U. and Butler, F.: The use of meta-analytical tools in risk assessment for food safety. Food Microbiol., in press, doi: 10.1016 / j. fm. 2010.04.007 (2010).
- 11) Hugenholtz, P.: Riding giants. Environmental Microbiol., **9**, 5 (2007).
- 12) International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF): Microorganisms in Foods; 7. Microbiological Testing in Food Safety Management. p. 45–70. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York (2001).
- 13) Koseki, S.: Microbial Responses Viewer (MRV): A new ComBase-derived database of microbial responses to food environments. Int. J. Food Microbiol., **134**, 75–82 (2009).
- 14) 小関成樹: 予測微生物学の最新の展開. 日食微誌, **26**, 1–6 (2009).
- 15) Koseki, S., Matsubara, M. and Yamamoto, K.: Prediction of a required log reduction with probability for *Enterobacter sakazakii* during high-pressure processing, using a survival/death interface model. Appl. Environ. Microbiol., **75**, 1885–1891 (2009).
- 16) Koseki, S. and Yamamoto, K.: Modelling the bacterial survival/death interface induced by high pressure processing. Int. J. Food Microbiol., **116**, 136–143 (2007).
- 17) Leistner, L.: Basic aspects of food preservation by hurdle technology. Int. J. Food Microbiol., **55**, 181–186 (2000).
- 18) McClure, P. J., Blackburn, C. D., Cole, M. B., Curtis, P. S., Jones, J. E., Legan, J. D., Ogden, I. D., Peck, M. W., Roberts, T. A., Sutherland, J. P. and Walker, S. J.: Modeling the growth, survival and death of microorganisms in foods—The UK food micromodel approach. Int. J. Food Microbiol., **23**, 265–275 (1994).
- 19) McKellar, R. C. and Lu, X.: Modeling microbial responses in food. p. 1–362. CRC Press, Boca Raton, USA (2004).
- 20) McMeekin, T. A.: Predictive microbiology: Quantitative science delivering quantifiable benefits to the meat industry and other food industries. Meat Sci., **77**, 17–27 (2007).
- 21) McMeekin, T. A., Hill, C., Wagner, M., Dahl, A. and Ross, T.: Ecophysiology of food-borne pathogens: Essential knowledge to improve food safety. Int. J. Food Microbiol., **139**, S64–S78 (2010).
- 22) McMeekin, T. A. and Olley, J.: Predictive microbiology. Food Technol. Aust., **38**, 331–334 (1986).
- 23) McMeekin, T. A., Olley, J., Ross, T., and Ratkowsky, D. A.: Predictive Microbiology: Theory and Application. p. 1–340. Research Studies Press, Tauton, Somerset, England (1993).
- 24) McQuestin, O. J., Shadbolt, C. T. and Ross, T.: Quantification of the relative effects of temperature, pH, and water activity on inactivation of *Escherichia coli* in fermented meat by meta-analysis. Appl. Environ. Microbiol., **75**, 6963–6972 (2009).
- 25) Mejlholm, O. and Dalgaard, P.: Modeling and predicting the growth boundary of *Listeria monocytogenes* in lightly preserved seafood. J. Food Prot., **70**, 70–84 (2007).
- 26) Mejlholm, O. and Dalgaard, P.: Modeling and predicting the growth of lactic acid bacteria in lightly preserved seafood and their inhibiting effect on *Listeria monocytogenes*. J. Food Prot., **70**, 2485–2497 (2007).
- 27) Mejlholm, O., Gunvig, A., Borggaard, C., Blom-Hanssen, J., Mellefont, L., Ross, T., Leroi, F., Else, T., Visser, D. and Dalgaard, P.: Predicting growth rates and growth boundary of *Listeria monocytogenes*—An international validation study with focus on processed and ready-to-eat meat and seafood. Int. J. Food Microbiol., **141**, 137–150 (2010).
- 28) Montville, R. and Schaffner, D. W.: Inoculum size influences bacterial cross contamination between surfaces. Appl. Environ. Microbiol., **69**, 7188–7193 (2003).
- 29) Nauta, M. J.: Separation of uncertainty and variability in quantitative microbial risk assessment models. Int. J. Food Microbiol., **57**, 9–18 (2000).
- 30) Nauta, M. J.: Modelling bacterial growth in quantitative microbiological risk assessment: Is it possible? Int. J. Food Microbiol., **73**, 297–304 (2002).
- 31) Peleg, M.: Advanced quantitative microbiology for foods and biosystems: Modeling for predicting growth and inactivation. p. 1–456. CRC Press, Boca Raton, USA (2006).
- 32) Peleg, M. and Cole, M. B.: Reinterpretation of microbial survival curves. Crit. Rev. Food Sci. Nutr., **38**, 353–380 (1998).
- 33) Ratkowsky, D. A., Olley, J., McMeekin, T. A. and Ball, A.: Relationship between temperature and growth rate of bacterial cultures. J. Bacteriol., **149**, 1–5 (1982).
- 34) Ratkowsky, D. A. and Ross, T.: Modeling the bacterial-growth no growth interface. Lett. Appl. Microbiol., **20**, 29–33 (1995).
- 35) Ravishankar, S., Zhu, L., and Jaroni, D.: Assessing the cross contamination and transfer rates of *Salmonella enterica* from chicken to lettuce under different food-

- handling scenarios. *Food Microbiol.*, **27**, 791–794 (2010).
- 36) Ross, T. and Dalgaard, P.: Secondary models in Modeling Microbial Responses in Food, McKellar, R.C. and Lu, X. (Eds.). p. 63–150. CRC Press, Boca Raton, USA (2004).
 - 37) Scott, W. J.: The growth of microorganisms on ox muscle. II. The influence of temperature. *J. Council for Scientific and Industrial Research*, **10**, 338–350 (1937).
 - 38) Sheen, S. and Hwang, C. A.: Modeling transfer of *Listeria monocytogenes* from slicer to deli meat during mechanical slicing. *Foodborne Pathog. Dis.*, **5**, 135–146 (2008).
 - 39) van Asselt, E. D. and Zwietering, M. H.: A systematic approach to determine global thermal inactivation parameters for various food pathogens. *Int. J. Food Microbiol.*, **107**, 73–82 (2006).
 - 40) Vialette, M., Pinon, A., Leporq, B., Dervin, C. and Membre, J.M.: Meta-analysis of food safety information based on a combination of a relational database and a predictive modeling tool. *Risk Anal.*, **25**, 75–83 (2005).