

微生物試験における精度管理手法について

一般財団法人 日本冷凍食品検査協会
横浜試験センター
齋藤 利江



目次



1. 微生物試験の精度管理
2. 微生物試験における内部精度管理手法
3. 精度管理結果の解析と評価方法
4. 国際標準に基づく内部精度管理手法
5. 微生物試験における外部精度管理

1. 微生物試験の精度管理

検査結果の信頼性を確保するために、登録食品検査機関ではGLP (Good Laboratory Practice) が導入されている。

GLPにおいて精度管理は、「検査担当者が十分な技能を有していること」、「検査が適切に行われたこと」を確認するための重要な活動として位置づけられている。



食品検査の信頼性確保



国内の取り組み

食品検査機関の信頼性を確保するために、厚生労働省により食品GLPが示され、これを導入することが義務付けられている。

平成20年7月9日 食安監発第0709004号

「**食品衛生検査施設**における検査等の業務管理について」
(別紙)食品衛生検査施設における検査等の業務管理要領

平成20年7月9日 食安監発第0709001号

「**登録検査機関**における製品検査の業務管理について」
(別紙)登録検査機関における製品検査の業務管理要領

業務管理要領の要求事項(抜粋)

- ・作業手順の文書化
- ・作業の記録
- ・施設機械器具及び試薬の管理
- ・検査の操作等の管理
- ・内部点検
- ・教育研修
- ・精度管理(**内部精度管理**、**外部精度管理**)
-

食品検査の信頼性確保

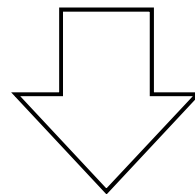


内部精度管理の法的な要求と規程

昭和23年7月13日厚生省令第23号

「食品衛生法施行規則」第37条第3

「(内部)精度管理とは、検査に従事する者の技能水準の確保その他の方法により検査の精度を適正に保つこと」をいう。



具体的な方法

平成9年4月1日衛食第117号

「食品衛生検査施設等における検査等の業務の管理の実施について」

精度管理は、(別添)「[精度管理の一般ガイドライン](#)」による。
これによることが困難な検査項目についてはこれに準じて実施する。

食品検査の信頼性確保

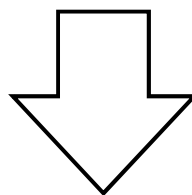


外部精度管理の法的な要求と規程

昭和23年7月13日厚生省令第23号

「食品衛生法施行規則」第37条第4

「(外部)精度管理とは、外部精度管理調査(国その他の適当と認められる者が行う精度管理に関する調査をいう。)を定期的に受けること。」をいう。



具体的な方法

平成9年4月1日衛食第117号

「食品衛生検査施設等における検査等の業務の管理の実施について」

外部精度管理調査については、「食品衛生検査施設等の外部精度管理調査の実施機関について(平成九年三月二六日衛食第九一号)」に基づき、**適当と認められた機関**の実施する外部精度管理調査を細菌、食品添加物、残留農薬、重金属、残留動物用医薬品等の検査項目群ごとに年一回以上受けること。

食品検査の信頼性確保



食品GLPをおこなうためのガイドライン

CAC/GL 27-1997

「食品の輸出入の規制に係わる試験所の能力評価ガイドライン」

“Guidelines for the assessment of the competence of testing laboratories involved in the import and export control of food”

ISO/IEC17025「校正及び試験機関の能力に関する一般要求事項」に準拠していること

食品分析のための適切な技能試験のスキームへの参加

コーデックスによって定められた原則に基づいて妥当性が確認された試験方法を用いていること

内部品質管理(内部精度管理)を行っていること

“Harmonized Guidelines for Internal Quality Control in Analytical Chemistry Laboratories”, Pure & Appl. Chem. 67 (1995) 649-666.

2. 微生物試験における内部精度管理手法

細菌検査における内部精度管理の方法は、「精度管理の一般ガイドライン」に示されているが、個別の検査項目においてはそのままの適用が困難な場合があり、精度管理の目的に合致する範囲での変更が必要となる。
ここでは検査項目別に内部精度管理の具体的な運用例を示す。

精度管理の一般ガイドライン

食品衛生検査施設等における検査等の業務の管理の実施について

既知の微生物を含む試験品を用いた精度管理 実施している検査に問題がないことの確認

| 対 象 | 頻 度 | 濃 度 | 目 標 値 |
|-------------------------------|--|--|---|
| 通常検出される微生物を対象とした検査 (定量検査) | <ul style="list-style-type: none"> ・検査を実施する都度 ・1回の検査で試験品数が20検体を超えるごと | <ul style="list-style-type: none"> ・基準値 ・基準値の1/5 | <ul style="list-style-type: none"> ・回収率70～120% ・zスコアを記録する |
| 通常検出されない微生物を対象とした検査 (定性検査) | <ul style="list-style-type: none"> ・検査を実施する都度 ・1回の検査で試験品数が20検体を超えるごと | <ul style="list-style-type: none"> ・検出下限値の5倍程度 | <ul style="list-style-type: none"> ・陽性 |

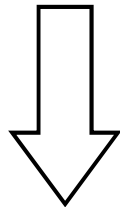
※この他に、「陰性対照」「培地対照」共に結果が陰性であることを確認する必要がある。

内部精度管理を行う頻度

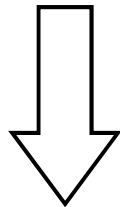


「精度管理の一般ガイドライン」にある「1回の検査で20検体を超えるごと」に精度管理の実施は、試験室への負担が大きい

通常検出されない微生物の精度管理において高濃度の病原菌を接種した精度管理検体と日常検査品の食品検体と同時に扱う問題がある



日常検査品を扱わない試験終了時、安全キャビネット内で実施する。
定期的に項目を定めて実施する。



試験室の実状にあわせることが実際の

内部精度管理を行う頻度の例

(一財)日本冷凍食品検査協会の精度管理実施計画

実施頻度

- ・ 基本的には「精度管理の一般ガイドライン」に基づき頻度を決定
- ・ 実施頻度が一定でない項目については前年度の実績を基に、20回に1回以上の頻度になるよう、1週間の実施頻度を決定

| 検査の頻度 | 週20回以上 | 週1回以上 20回未満 | 月1回以上 週1回未満 | 月1回未満 |
|---------------|---------------------------|-------------------------------|---------------------------------|--------------------|
| 内部精度管理の 頻度 | 20サンプル毎 または 検査実施の都度 | 前年度実績により 週の実施回数を 決定 | 検査実施の都度 | 年1回以上又は 検査実施の都度 |
| 検査項目の例 | 生菌数 大腸菌群 黄色ブドウ球菌 | サルモネラ属菌 腸炎ビブリオ 腸管出血性大腸菌 | セレウス菌 カンピロバクター コレラ菌 真菌 | 赤痢菌 腸内細菌科菌群 |

精度管理の一般ガイドライン



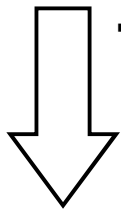
食品衛生検査施設等における検査等の業務の管理の実施について

回収率と検出下限値の確認

- ・ 定量検査・・・回収率を70～120%を目安として確保する
- ・ 定性検査・・・検出下限値を確認しておく

平均値及び標準偏差の目標値の設定

通常検出される微生物を対象とした検査(定量試験)の精度管理における目標値を設定する。



- ・ 既知の微生物を含む試験品を用いて、5回以上(可能であれば10回)の繰り返し検査を実施し、平均値及び標準偏差を求める

真値に近い(バラツキが小さい)結果が得られていることの確認

- ・ 既知の微生物を含む試験品を用いた精度管理を実施(5検体以上)
- ・ 1回/月実施

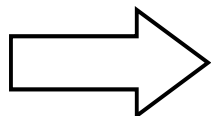
精度管理の添加濃度



通常検出される微生物を対象とした検査(定量検査)

添加濃度「基準値及び基準値の1/5程度」

成分規格の「細菌数」の基準から添加濃度を算出

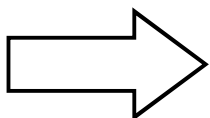


回収率が確保できる？

通常検出されない微生物を対象とした検査(定性検査)

添加濃度「検出限界値の5倍程度の濃度」

試験品25gに検出限界値を1個として算出



低い菌量をコントロールできる？

回収率の設定

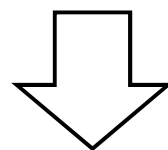


「精度管理の一般ガイドライン」における管理基準

- ・ 既知の微生物を含む試験品において、添加量に対する回収率を少なくとも70～120%を目安として確保すること
- ・ 別途回収率が定められている場合を除く

回収率に影響を及ぼす要因

- ・ 検査法に起因する精度の違い
- ・ 検査対象微生物の性質
- ・ 基準となる添加量の測定方法
- ・ 添加菌の濃度レベル



検査項目によっては回収率を検査法毎に定める必要がある

生菌数(標準寒天培養法)



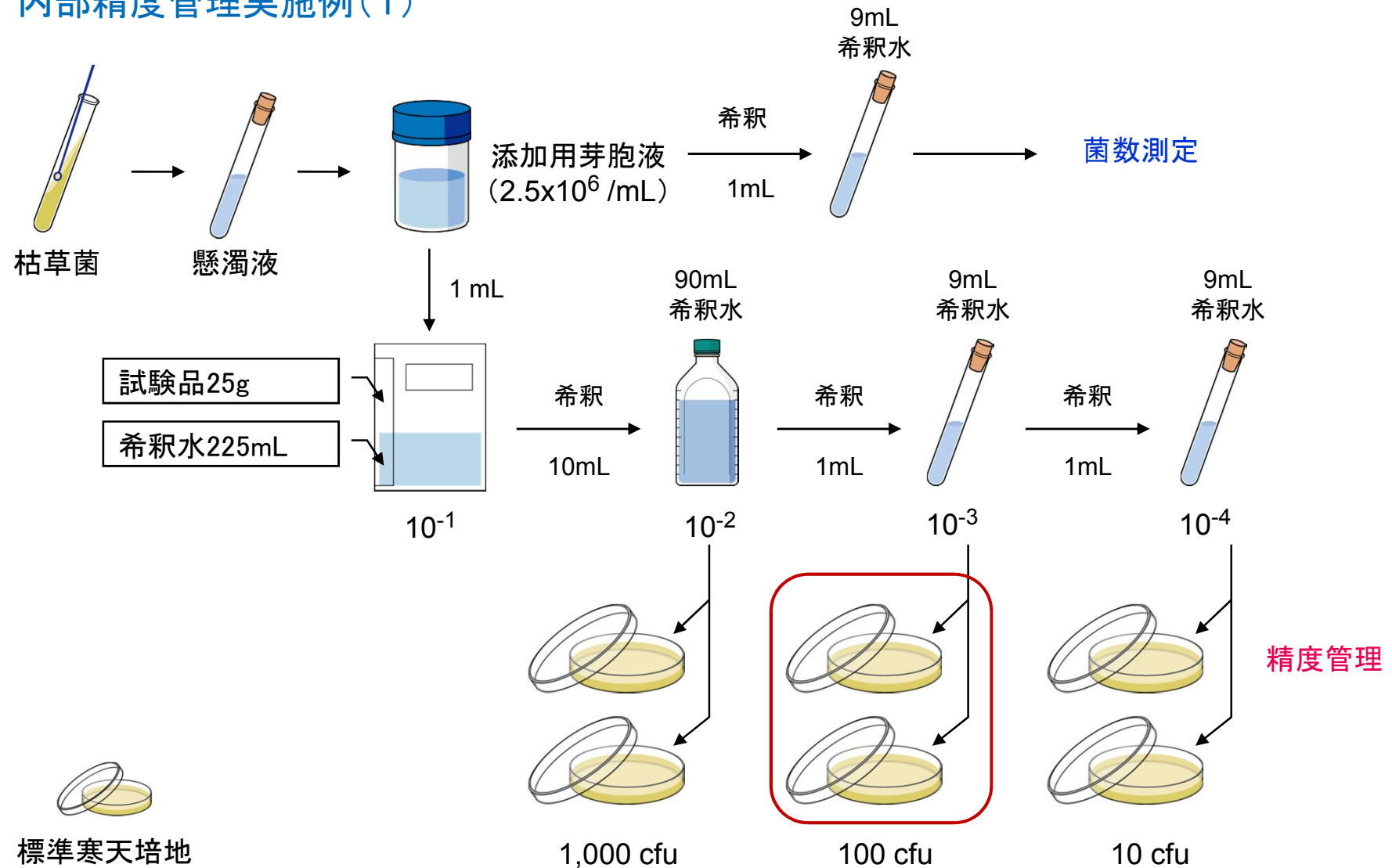
内部精度管理実施例(1)

| | |
|---------------------------|--|
| 区分 | 通常検出される微生物を対象とした検査 |
| 試験品の種類 | 冷凍食品 うなぎ蒲焼など |
| 準拠する規格基準 | 食品添加物等の規格基準 - 冷凍食品の成分規格 加熱後摂取冷凍食品(凍結直前加熱) |
| 基準値 | 1.0×10^5 cfu/g |
| 検知対象微生物 | <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633 (購入した標準菌株) |
| 添加濃度 | 1.0×10^5 cfu/g (基準値) 2.0×10^4 cfu/g (基準値の1/5) |
| 管理基準 | 回収率: 70~120%(対数) zスコア: $-2 < z < 2$ |
| 枯草菌を培養し芽胞を形成させ、懸濁液として冷蔵保管 | |

生菌数(標準寒天培養法)



内部精度管理実施例(1)



大腸菌群(デソキシコレート寒天培養法)

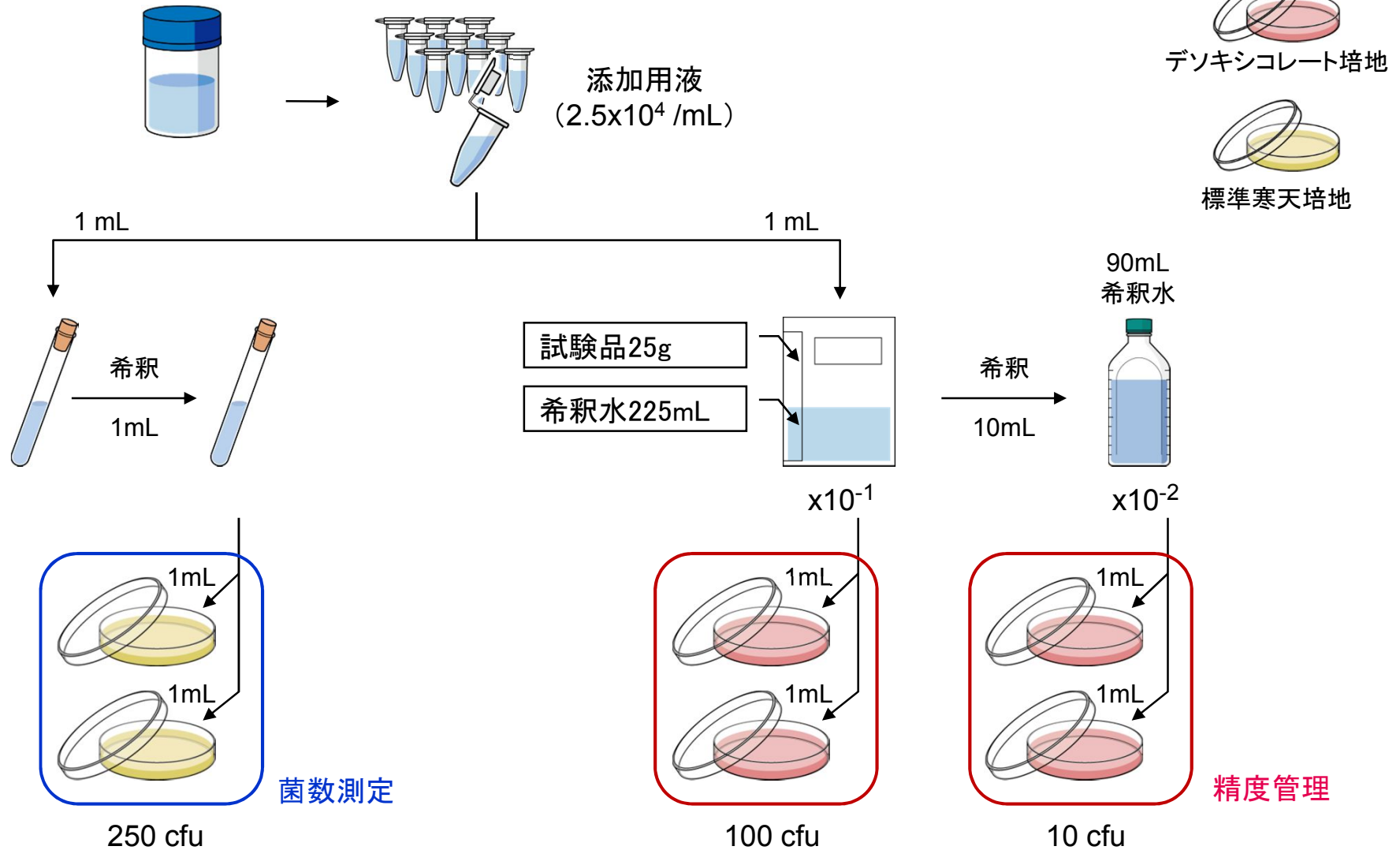


内部精度管理実施例(2)

| | |
|--|---|
| 区分 | 通常検出されない微生物を対象とした検査 |
| 試験品の種類 | 冷凍食品 うなぎ蒲焼など |
| 準拠する規格基準 | 食品添加物等の規格基準 - 冷凍食品の成分規格 加熱後摂取冷凍食品(凍結直前加熱) |
| 基準値 | 試料原液の10倍希釈液1mLについて陰性 (<100/g) |
| 検知対象微生物 | <i>Escherichia coli</i> ATCC 11246 (10 ⁴ /mLオーダーに調製し、小分け冷凍) |
| 添加濃度 | 1.0x10 ³ cfu/g (検出下限値の10倍) |
| 管理基準 | <ul style="list-style-type: none">・試料原液の10倍希釈液1mLから大腸菌群を検出できること・回収率:90~110% (対数)(参考) |
| 添加菌は菌数の変動が大きく、常に一定量を試験品に添加することが困難なので、添加回収試験と並行して添加菌の菌数測定を行う。 | |

大腸菌群(デソキシコレート法)

内部精度管理実施例(2)



大腸菌群(BGLB培地培養法)



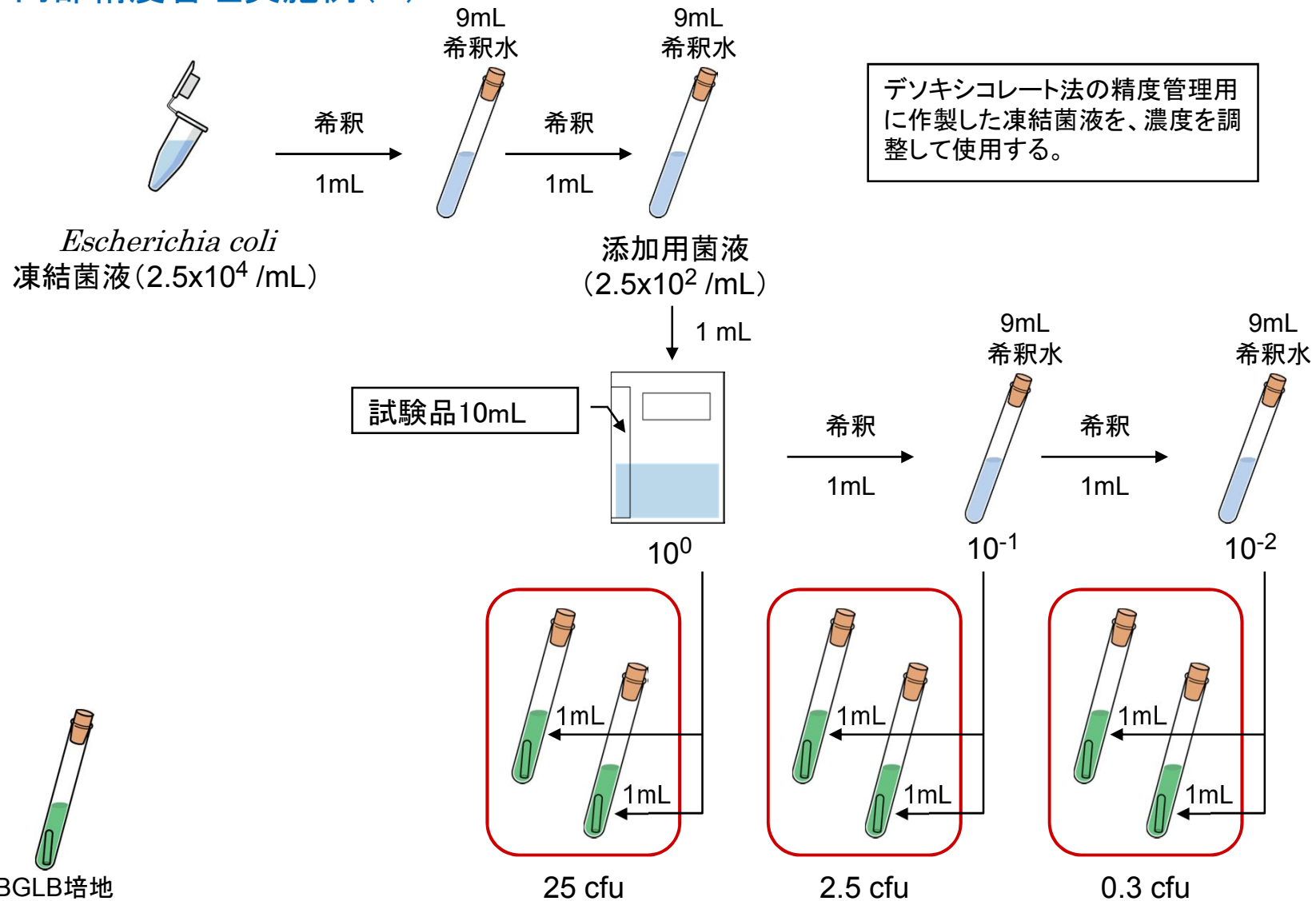
内部精度管理実施例(3)

| | |
|---|---|
| 区分 | 通常検出されない微生物を対象とした検査 |
| 試験品の種類 | 飲用乳(牛乳) |
| 準拠する規格基準 | 乳及び乳製品の成分規格等に関する省令(乳等省令) (牛乳の成分規格等) |
| 基準値 | 陰性 (1.11mL × 2本中) |
| 検知対象微生物 | <i>Escherichia coli</i> ATCC 11246 (培養液を10 ⁴ /mLオーダーに調製し、小分け冷凍) |
| 添加濃度 | 25 cfu/mL (試験法の感度と添加する培養液の菌数のバラツキを勘案し設定) |
| 管理基準 | 陽性であること |
| 凍結菌液を希釈水で100倍希釈し、その1mLを試験品10mLに添加する(約25 cfu /mL相当)。 | |

大腸菌群(BGLB培地培養法)



内部精度管理実施例(3)



黄色ブドウ球菌 (卵黄加マンニット食塩寒天平板培地塗沫法)



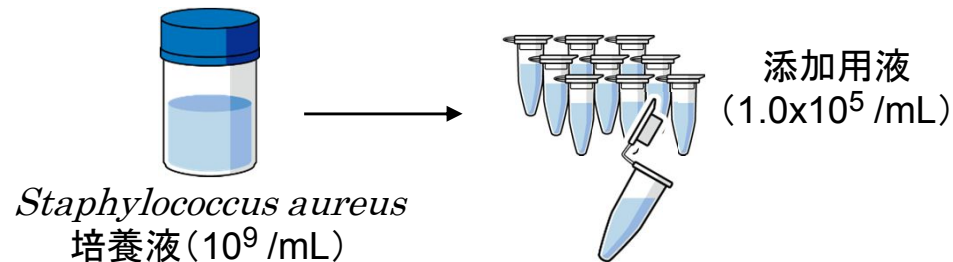
内部精度管理実施例(4)

| | |
|--|---|
| 区分 | 通常検出される微生物を対象とした検査 |
| 試験品の種類 | 食肉製品 |
| 準拠する規格基準 | 食品添加物等の規格基準 - 食肉製品の成分規格 非加熱食肉製品、特定加熱食肉製品、加熱食肉製品(加熱後包装) |
| 基準値 | 1,000以下/g |
| 検知対象微生物 | <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 (培養液を 10^5 /mLオーダーに調製し、小分け冷凍) |
| 添加濃度 | 1.0×10^4 cfu/g (試験法の定量性を勘案し設定) |
| 管理基準 | 回収率: 70~120%(対数) zスコア: $-2 < z < 2$ |
| 培養菌液調製時の菌数に対する回収率を算出。小分けした培養菌液の菌数は比較的均一で安定的。 | |

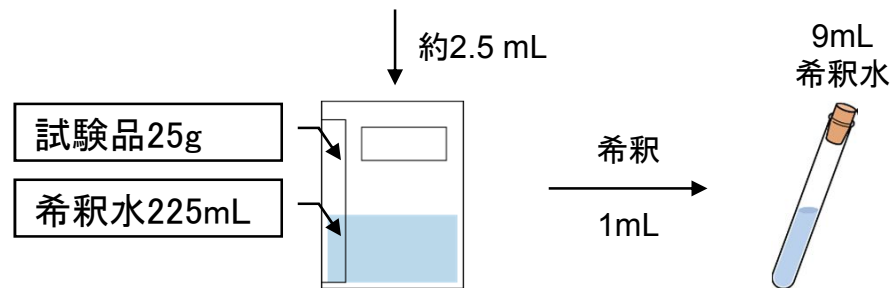
黄色ブドウ球菌 (卵黄加マンニット食塩寒天平板培地塗沫法)



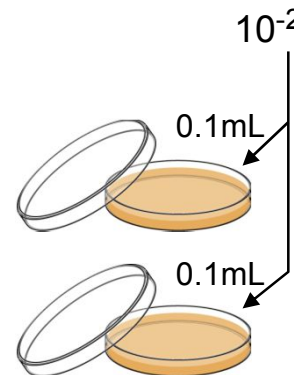
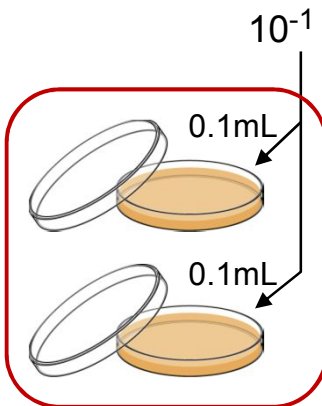
内部精度管理実施例(4)



黄色ブドウ球菌は精度管理の実施頻度が高く、実施の都度、標準菌株の継代培養を繰り返すと菌株に異常が発生する場合がありますので、凍結菌液を作製し、これを添加用菌液とする。



基準値(1,000cfu/g)相当を添加した場合、枠内の平板1枚あたり約10cfuしか検出されないため、定量性の維持が困難。



卵黄加マンニット培地

クロストリジウム属菌 (クロストリジウム培地嫌気培養法)



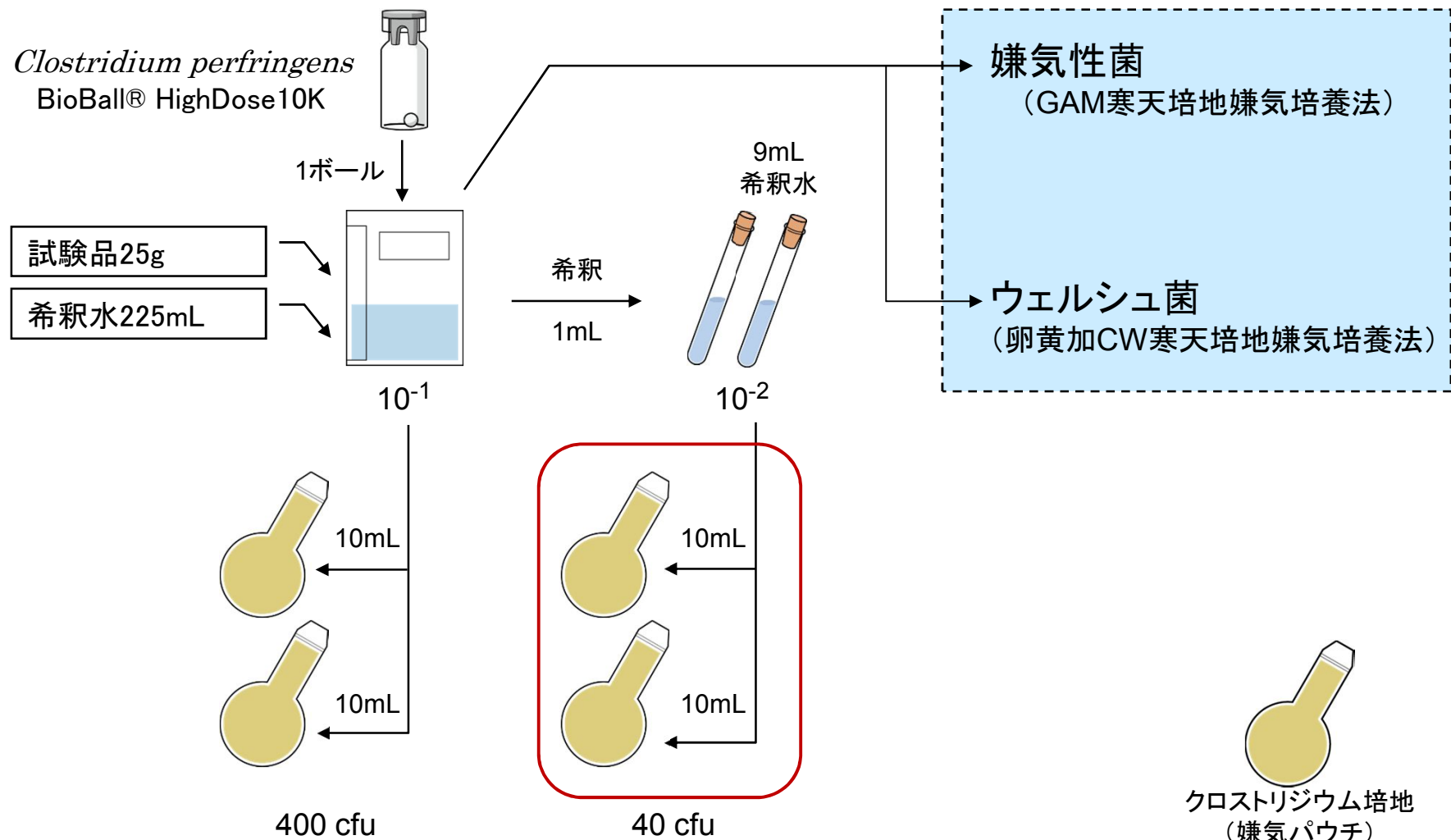
内部精度管理実施例(5)

| | |
|--|--|
| 区分 | 通常検出される微生物を対象とした検査 |
| 試験品の種類 | 食肉製品 |
| 準拠する規格基準 | 食品添加物等の規格基準 - 食肉製品の成分規格 特定加熱食肉製品、加熱食肉製品(加熱後包装) |
| 基準値 | 1,000/g以下 |
| 検知対象微生物 | <i>Clostridium perfringens</i> NCTC8798 (シスメックス・バイオメリュー BioBall® HighDose10K) |
| 添加濃度 | 1ボール/25g (10,000cfu/25g = 400/g) |
| 管理基準 | 回収率: 70~120%(対数) |
| シスメックス・バイオメリュー 社のBioBall® HighDose10Kは菌数が8,000~12,000cfuに調整された製品 | |

クロストリジウム属菌 (クロストリジウム培地嫌気培養法)



内部精度管理実施例(5)



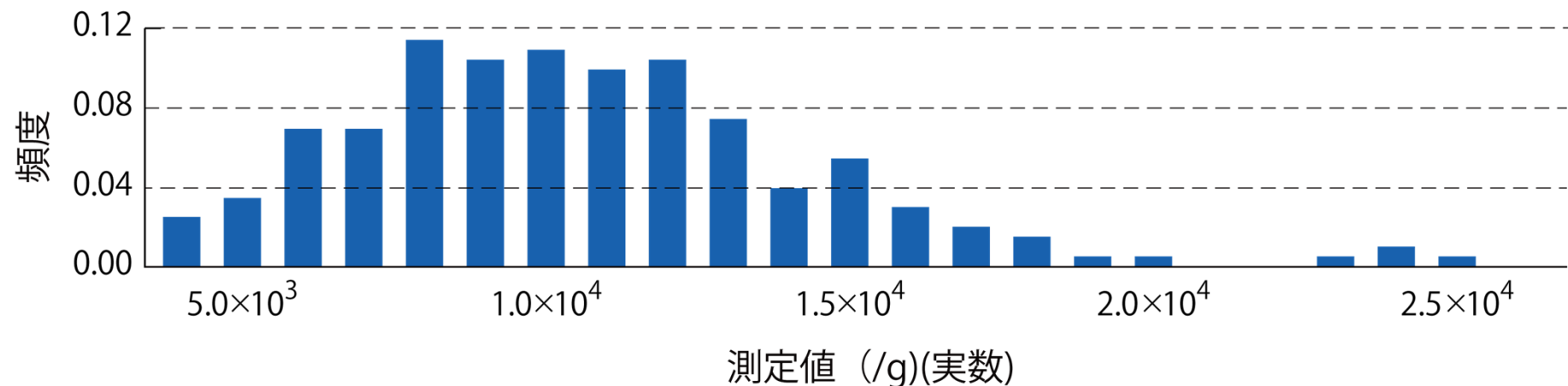
3. 精度管理結果の解析と評価方法

「精度管理の一般ガイドライン」では回収率以外に明確な管理基準が示されていないため、他の管理指標（平均値、標準偏差、 z スコア等）については、各検査機関において評価基準を確立する必要がある。

微生物検査の統計的管理



測定値(実数)は平均値を中心とした偏った分布を形成する

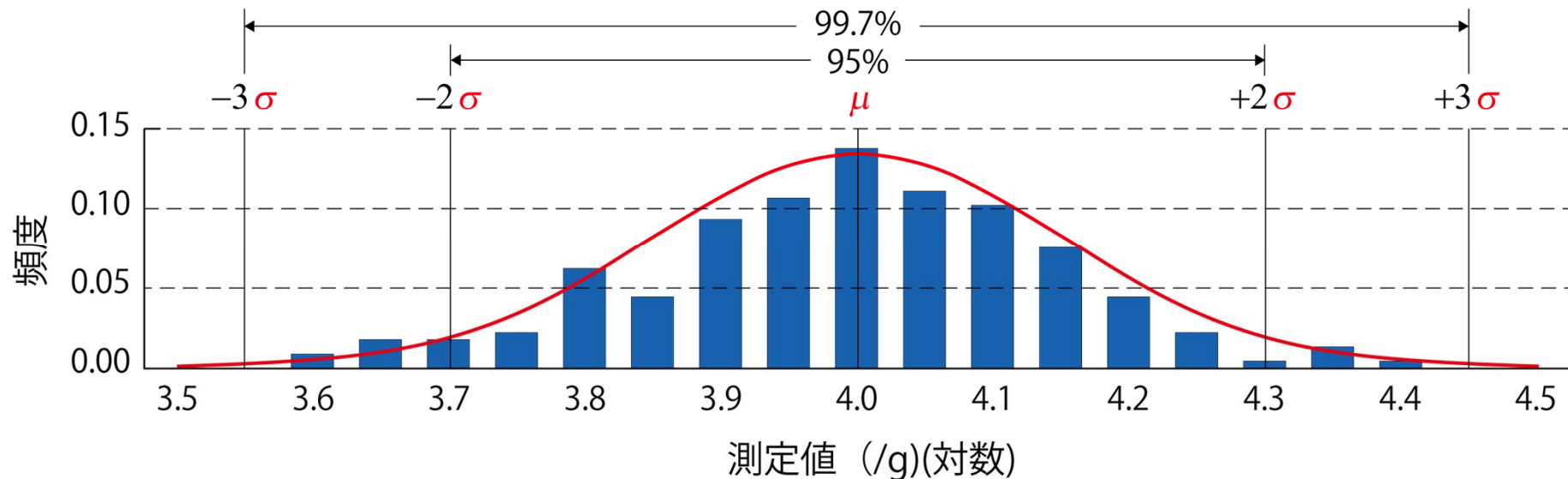


ある真値(この例では 1.0×10^4 /g)をもつサンプルを繰返し測定し、度数分布を作成すると、グラフの右側(菌数の高い側)がゆるやかな左右非対称の分布となる。

微生物検査の統計的管理



測定値の対数(常用対数)の分布は正規分布で近似できる



正規分布の平均値(μ)と標準偏差(σ)から得られる信頼区間を基に管理基準を設定する。

紹介する管理基準は全て信頼区間の考え方に基づく

$\mu \pm 2\sigma$ (警戒限界)・・・傾向を分析し、潜在的な異常がないか確認する

$\mu \pm 3\sigma$ (処置限界)・・・測定結果は採用できない。原因の究明が必要

zスコア



測定値のばらつきを示す指標

「精度管理の一般ガイドライン」では管理基準が示されていないが、測定値の傾向を把握する上で、重要な指標となる。

測定値の平均: \bar{x} 標準偏差: s のとき、測定値 x_i の zスコアは

$$z_i = \frac{x_i - \bar{x}}{s} \quad \text{で表わされる}$$

zスコアの ± 2 はヒストグラムの 2σ 及び -2σ と一致する。

| | | |
|------|------------------|--------------------------|
| | $ z < 2$ | (良好)測定値は統計的管理状態にある |
| 警戒限界 | $2 \leq z < 3$ | (要監視)原因を究明し、改善措置を講じる |
| 処置限界 | $3 < z $ | (重点監視)試験工程、精度管理方法の見直しを行う |

生菌数

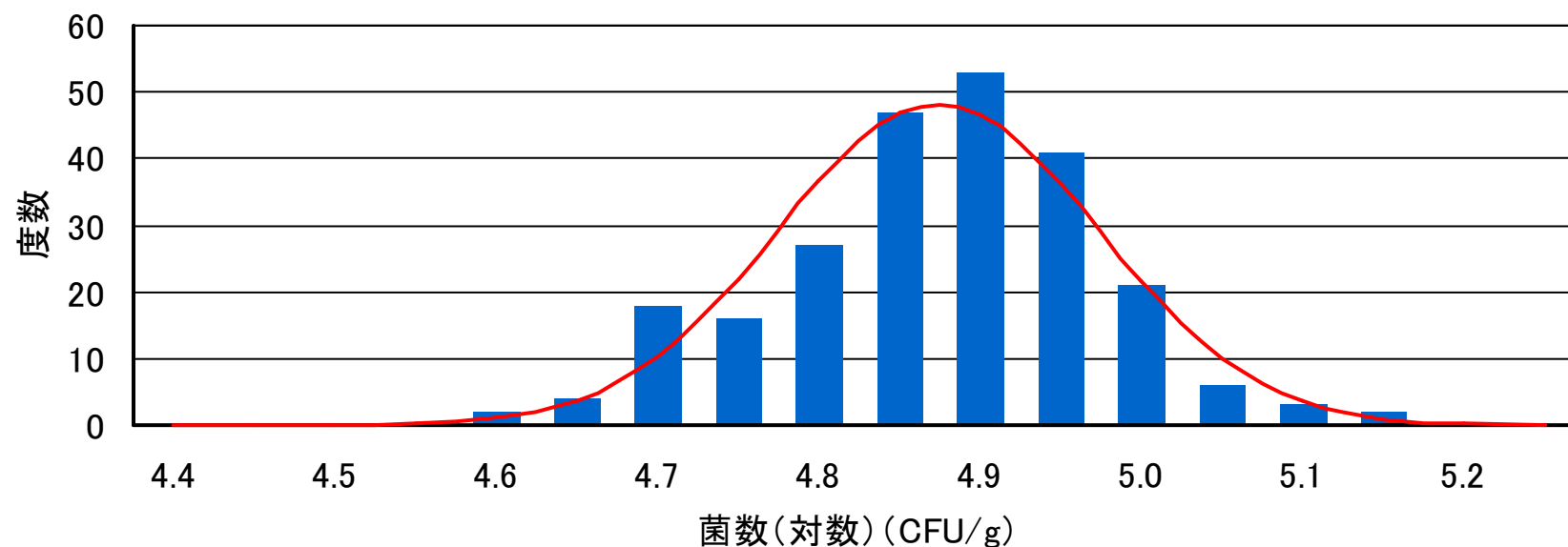


測定値の分布

添加回収と共に毎回添加菌の菌数測定をおこない、添加量がほぼ一定であることを確認した。

カッコ内は実数値

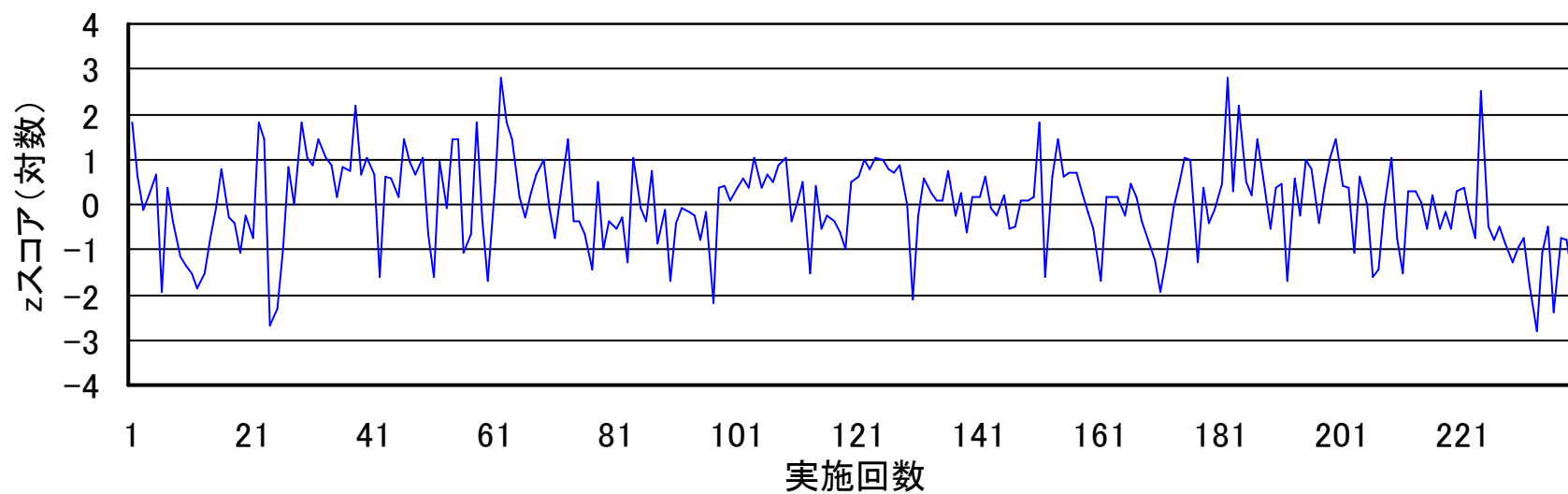
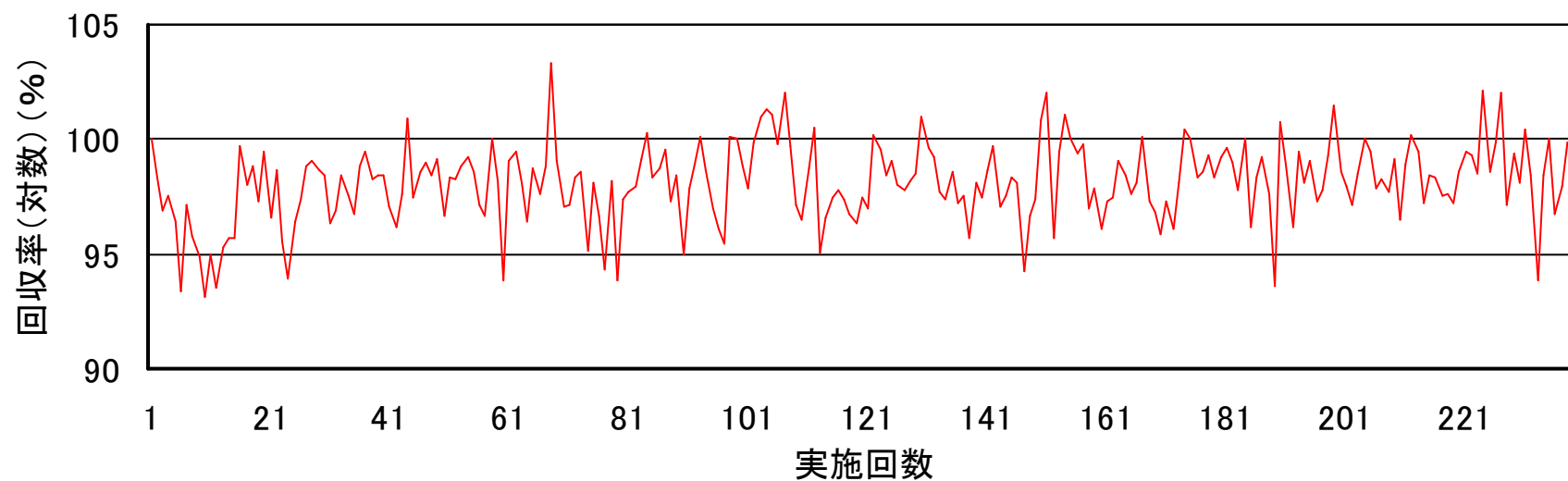
| | |
|---------------|-------------------------------|
| 実施回数 | 240 |
| 添加菌数(対数)(/g) | 5.005 (1.01x10 ⁵) |
| 測定値平均(対数)(/g) | 4.899 (7.93x10 ⁴) |
| 標準偏差(対数) | 0.0990 |
| 警戒限界超過 | 11 |
| 処置限界超過 | 0 |



生菌数



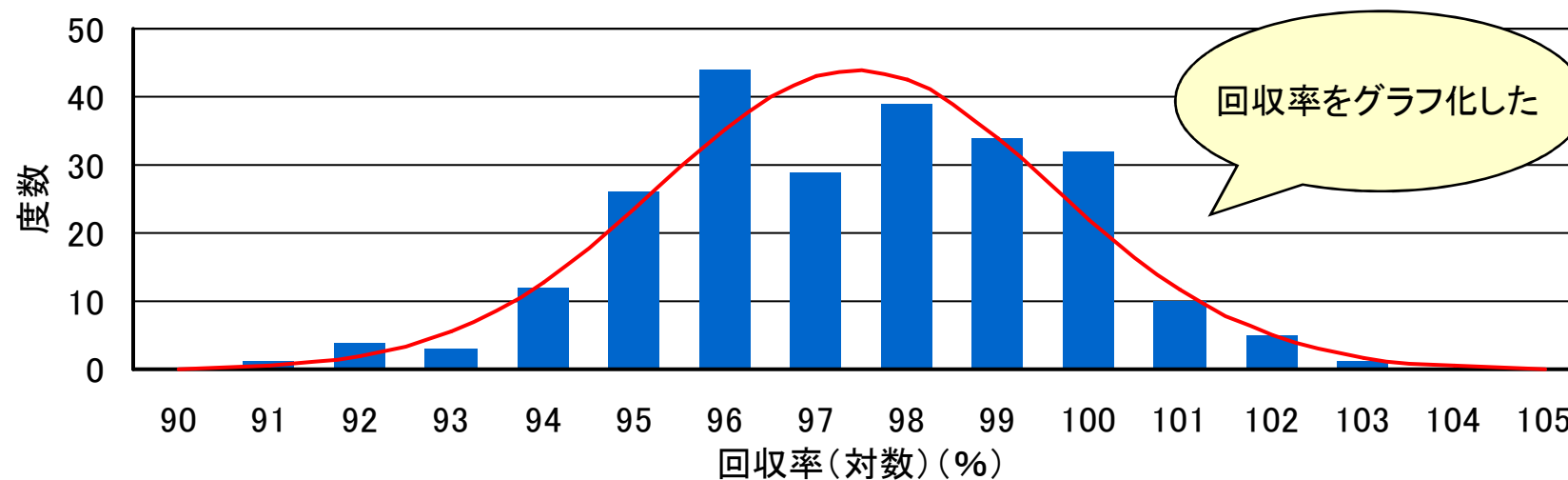
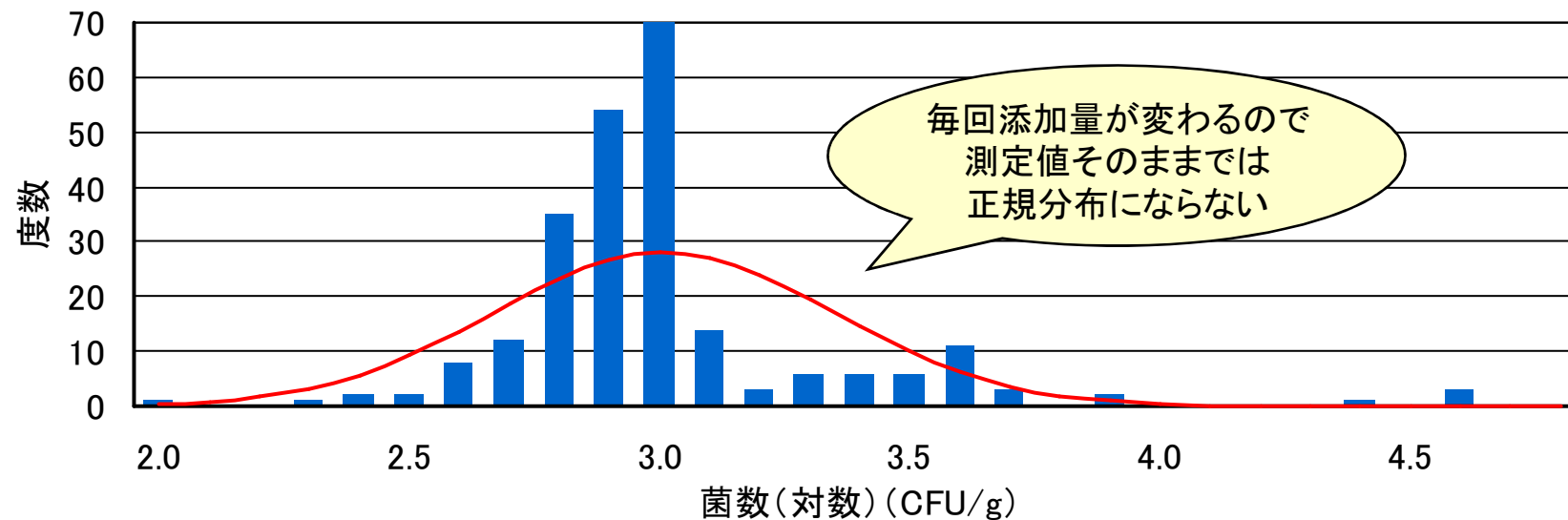
回収率とzスコア



大腸菌群



測定値の分布



大腸菌群

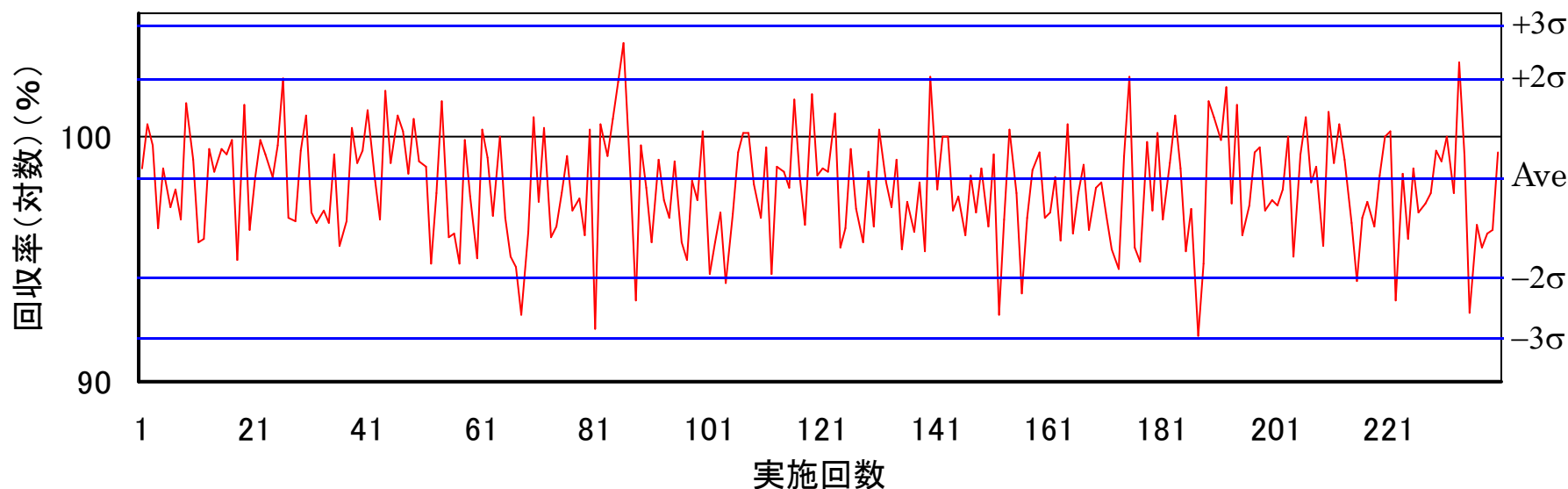


回収率によるばらつきの管理

常に一定の菌量を添加することが困難なので、zスコアによるばらつきの管理ができない。そこで、「回収率」に対して管理基準を設定した。

※ 右の表の数値は240回終了後の最終的な値。
実施途中ではそれまでの結果から管理基準を設定している。

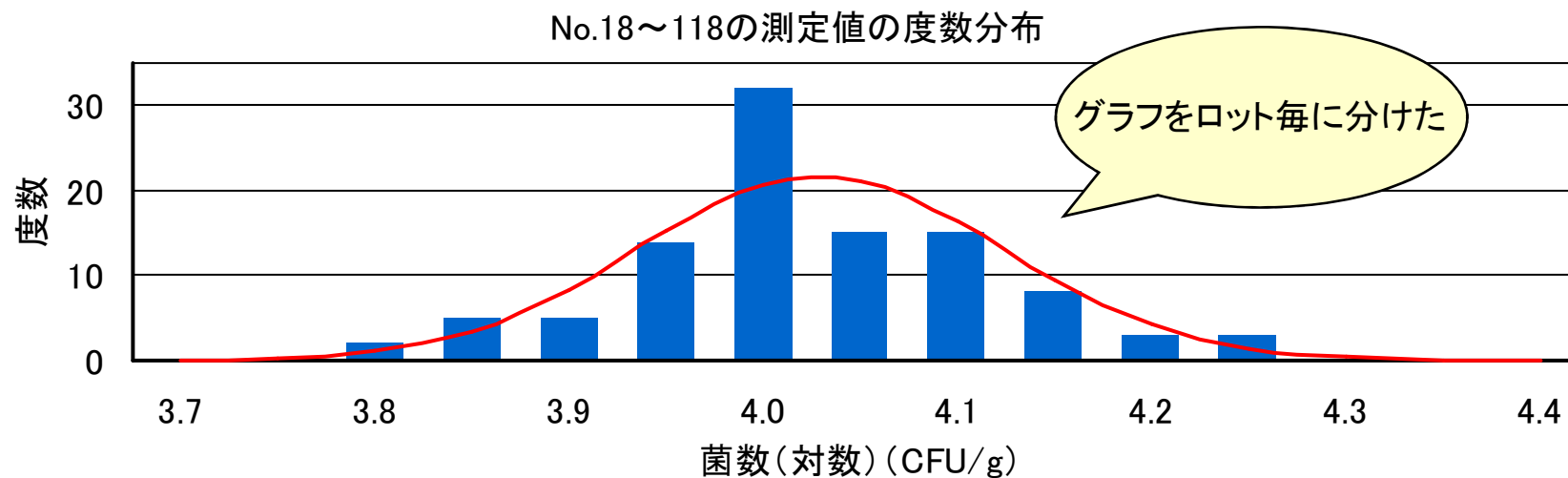
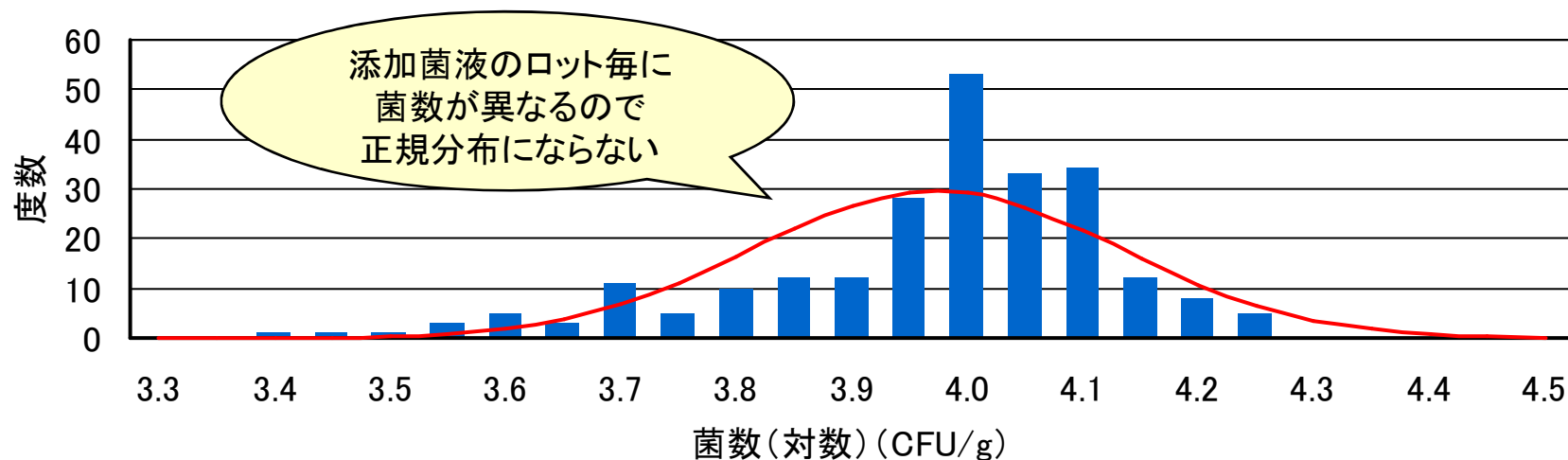
| | |
|-----------------------|------------|
| 実施回数 | 240 |
| 回収率平均(対数)(%) | 98.2 |
| 回収率の標準偏差 | 2.152 |
| 警戒限界($\pm 2\sigma$) | 93.9~102.5 |
| 処置限界($\pm 3\sigma$) | 91.8~104.7 |
| 警戒限界超過 | 12 |
| 処置限界超過 | 0 |



黄色ブドウ球菌



測定値の分布



黄色ブドウ球菌

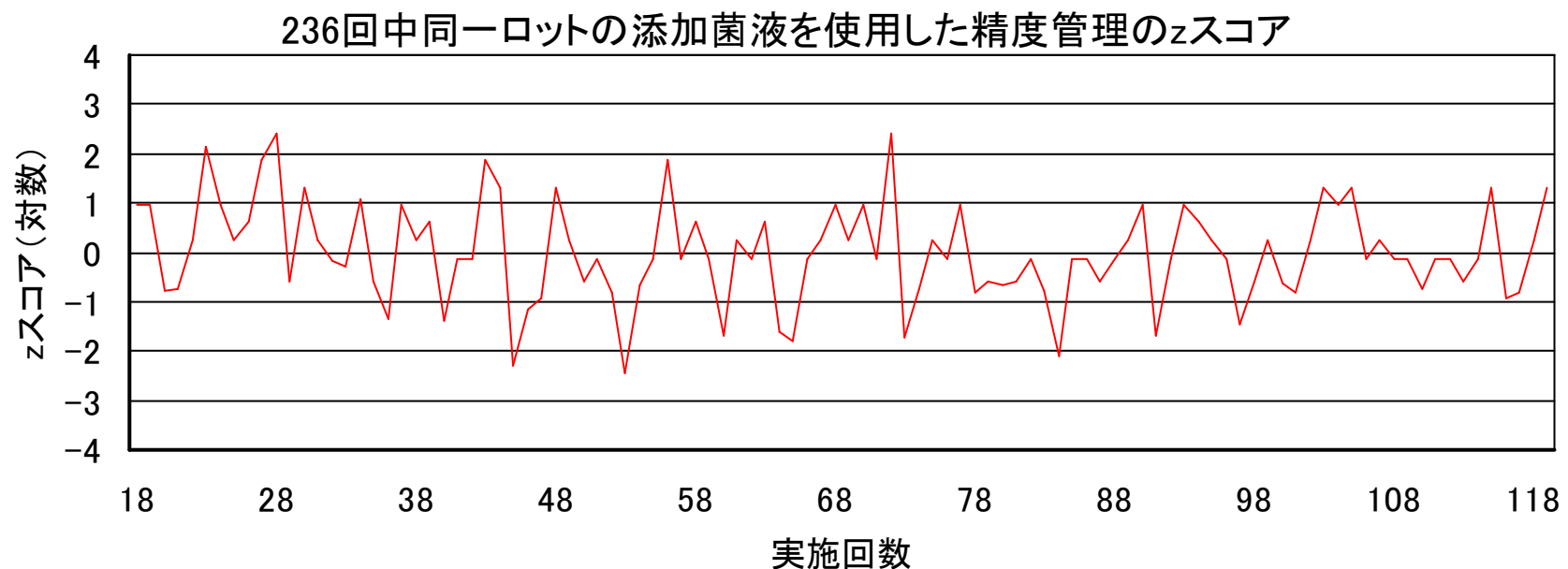


zスコア

添加回収と共に毎回添加菌の菌数測定をおこない、添加量がほぼ一定であることを確認した。

カッコ内は実数値

| | |
|---------------|--------|
| 実施回数 | 102 |
| 添加菌数(対数)(/g) | 3.964 |
| 測定値平均(対数)(/g) | 4.054 |
| 標準偏差(対数) | 0.0938 |
| 警戒限界超過 | 6 |
| 処置限界超過 | 0 |



ウェストガード・ルール



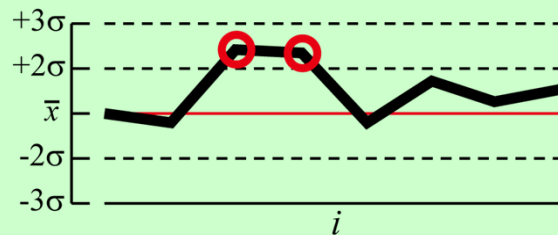
潜在的異常の存在が示唆される管理指標の並びを検知する方法

いずれかに該当すれば、処置限界超過と同じように改善が必要

2₂s

ルール

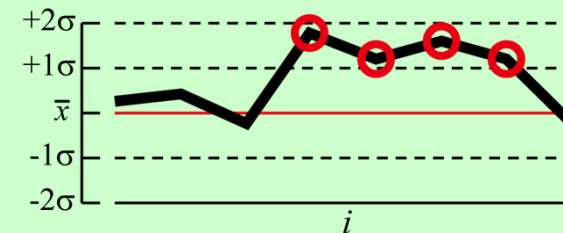
連続した2つの結果が
平均から 2σ 以上離れている



4₁s

ルール

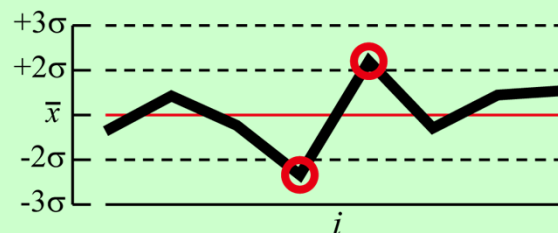
連続した4つの結果が
平均から 1σ 以上離れている



R₄s

ルール

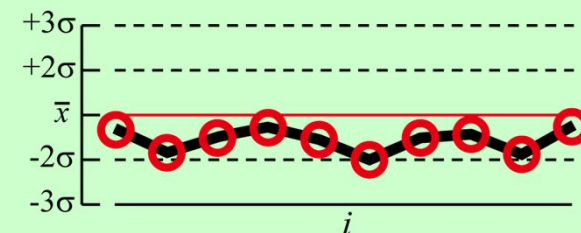
連続した2つの結果の差が
 4σ 以上離れている



10_x

ルール

結果が10回連続で
平均から同じ側に偏っている



4. 国際標準に基づく内部精度管理手法

ハーモナイズドガイドラインはIUPAC、ISO及びAOACインターナショナルという国際的な標準化団体によって共同作成された内部精度管理のガイドラインである。

ハーモナイズドガイドラインにおいて内部精度管理は「GLPによって品質保証手段が正しく実施されたことの最終的な点検手段」と定義されています。

国際的な内部精度管理のガイドライン

CAC/GL 27-1997

「食品の輸出入の規制に係わる試験所の能力評価ガイドライン」

内部品質管理(内部精度管理)は以下の文書を参照すること

“Harmonized Guidelines for Internal Quality Control in Analytical **Chemistry** Laboratories”

(**理化学**分析試験所の内部品質(精度)管理に関するガイドライン)

内部精度管理とは、GLPによって品質保証手順が正しく実施されたことの最終的な点検手段(故に遡及的)。

その方法は・・・

- ・管理試料の測定
- ・試料の反復測定
- ・添加回収試験

及びこれらの測定値の統計的原理に基づく評価

管理試料の要件と種類



管理試料の要件

- ・分析対象物質の濃度が適切で、値付けされている
- ・試験品の性質を代表している
- ・長期間に渡り使用できる量と安定性
- ・分析する際に均質に分割できる

認証標準物質 (Certified Reference Material)

内部標準物質 (House Reference Material)

試験所での分析により濃度を付与した管理試料

技能試験で評価された管理試料

配合により調製された管理試料

スパイクにより調製された管理試料

内部精度管理の種類

| | 監視の間隔 | 監視の対象 | 実施方法 | 管理指標 |
|---------------------|---------------|--------------|---------------------|-------------------|
| 反復測定 | 短期的 (分析ラン) | 精度 (偶然誤差) | ランダムに選択 した試験品で実施 | 2測定値の差の 絶対値 |
| 管理試料 または 添加回収 | 長期及び短期的 | 真度及び精度 | 試験品と併行して 実施 | 回収率 及び 標準偏差 |

※定性検査項目では精度は無く、真度のみ検出/不検出で管理する

真度 (Trueness)

検査結果の真の値からの偏りの程度。「回収率」として表される。

精度 (Precision)

検査結果のばらつきの程度。「反復測定値の差の絶対値」及び「測定値の標準偏差」として表される。

実施頻度の設定



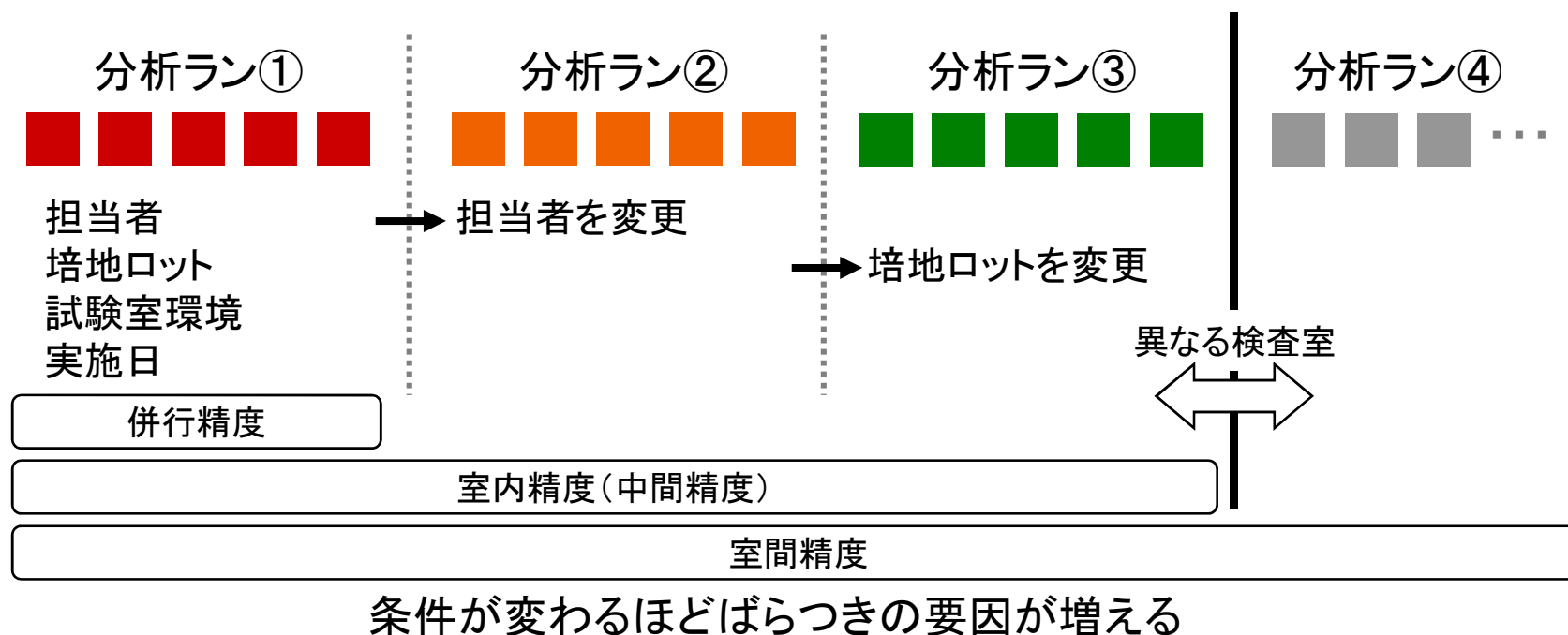
内部精度管理の実施方法は、試験品の分析の頻度と各ランのサイズおよび性質によって決定する

| | 管理試料(添加回収) | 二重測定 |
|---|--|-----------------------|
| (i) 一度に分析する類似の試料が少ない場合 (例えば20未満) | ラン毎に少なくとも1回実施 | 少なくとも試料の半分をランダムに選んで実施 |
| (ii) 一度に分析する類似の試料が多い場合 (例えば20以上) | おおよそ10試料に1回の割合で実施 | 少なくとも5試料をランダムに選んで実施 |
| (iii) 類似する試料が連続するが、測定する微生物の菌数範囲が広い場合 | (i) または (ii) と同等の頻度で、少なくとも代表的な2濃度で実施 ・典型的な試料の中間の菌数 ・上記の菌数の10倍または1/10 | 5試料につき少なくとも1回実施 |
| (iv) 不定期にしか実施しない検査 (<i>ad hoc analysis</i>) | (i) または (ii) と同等の頻度で実施 | 全ての試験品について実施 |

分析ラン (Analytical Run)

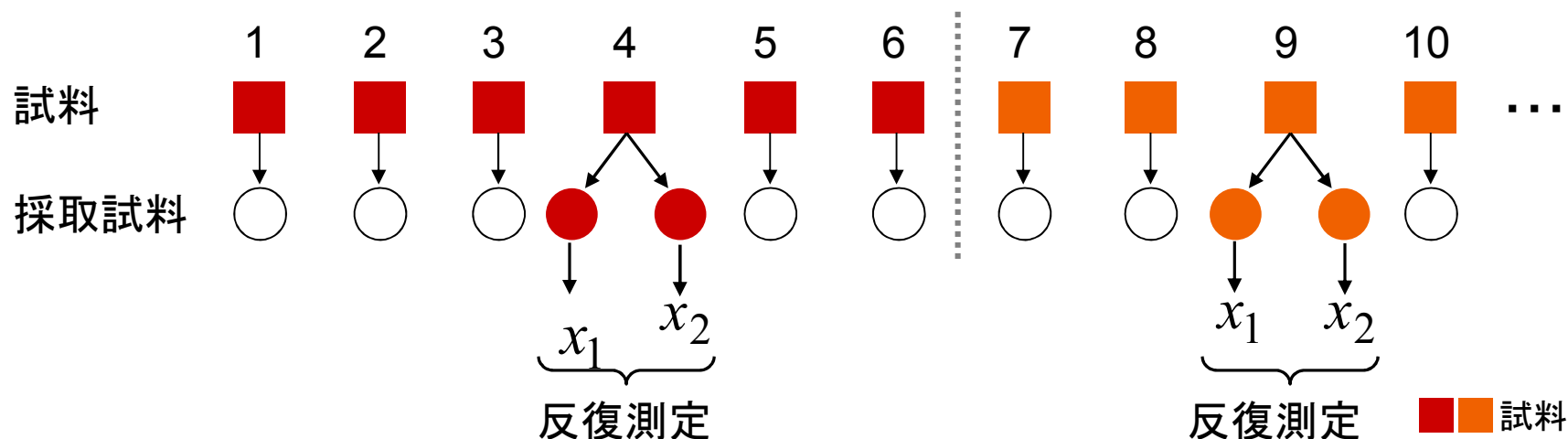


■ ■ ■ 試料



「分析ラン」とは、同一の条件下で測定を行う試料のグループ

試料の種類ごとに別の分析ランとみなし、それぞれの分析ランで反復測定による精度管理を行なうべきだが、現実的には試料の分析順序を変更できない、業務の余裕がない等の理由により実施頻度は制限される。



【管理指標】 $|d| = |x_1 - x_2|$

例)

$$x_1 = 4.25 \times 10^3 / \text{g} (3.628)$$

$$x_2 = 5.80 \times 10^3 / \text{g} (3.763)$$

$$|d| = |3.628 - 3.763| = 0.135$$

【基準値】 $3\sqrt{2} \sigma_0$

σ_0 は分析ラン内における精度を表す標準偏差。 $3\sqrt{2}\sigma_0$ は99.7%信頼区間の境界値(処置限界)。

例)

$$\sigma_0 = 0.0884 \text{ とすると } 3\sqrt{2}\sigma_0 = 0.375$$



| No. | 測定値1 (実数) | 測定値1 (対数) | 測定値2 (実数) | 測定値2 (対数) | d^2 |
|------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------|
| 1 | 7500 | 3.875 | 8500 | 3.929 | 0.0029 |
| 2 | 6700 | 3.826 | 11400 | 4.055 | 0.0524 |
| 3 | 11600 | 4.064 | 11900 | 4.074 | 0.0001 |
| 4 | 12400 | 4.092 | 9500 | 3.978 | 0.0130 |
| 5 | 12800 | 4.107 | 12300 | 4.088 | 0.0004 |
| 6 | 13500 | 4.129 | 12300 | 4.090 | 0.0015 |
| 7 | 6600 | 3.820 | 9300 | 3.968 | 0.0219 |
| 8 | 6300 | 3.799 | 7000 | 3.845 | 0.0021 |
| 9 | 8200 | 3.914 | 11600 | 4.063 | 0.0222 |
| 10 | 6800 | 3.833 | 10700 | 4.027 | 0.0384 |
| $\sum d^2$ | | | | | 0.1564 |

管理限界の設定

例) $10^4/\text{g}$ 程度の汚染試料を使用して繰返し測定を実施した($n=10$)。

この時、標準偏差(σ_0)の推定値 S_r は

$$s_r = \sqrt{\sum d^2 / 2n} = 0.0884$$

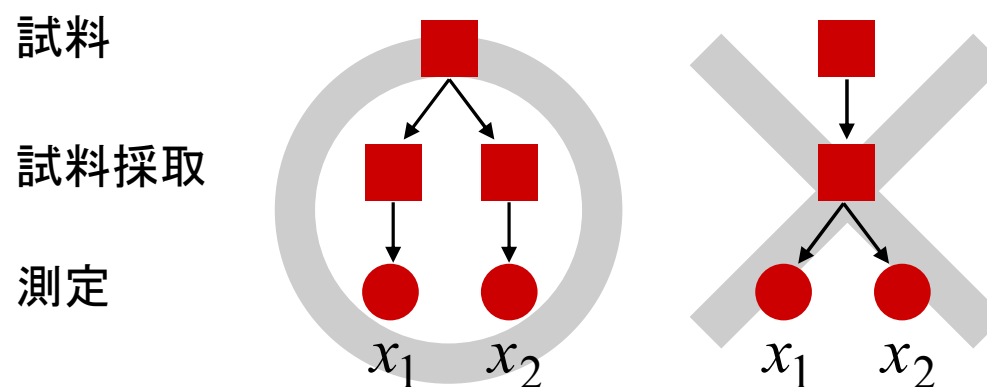
となるので、 $|d|$ の基準値は

$$3\sqrt{2} \sigma_0 = 0.375$$

$3\sqrt{2} \sigma_0$ は $|d|$ の99.7%信頼区間を示す。
これを超えるのはおよそ1,000回中3回。

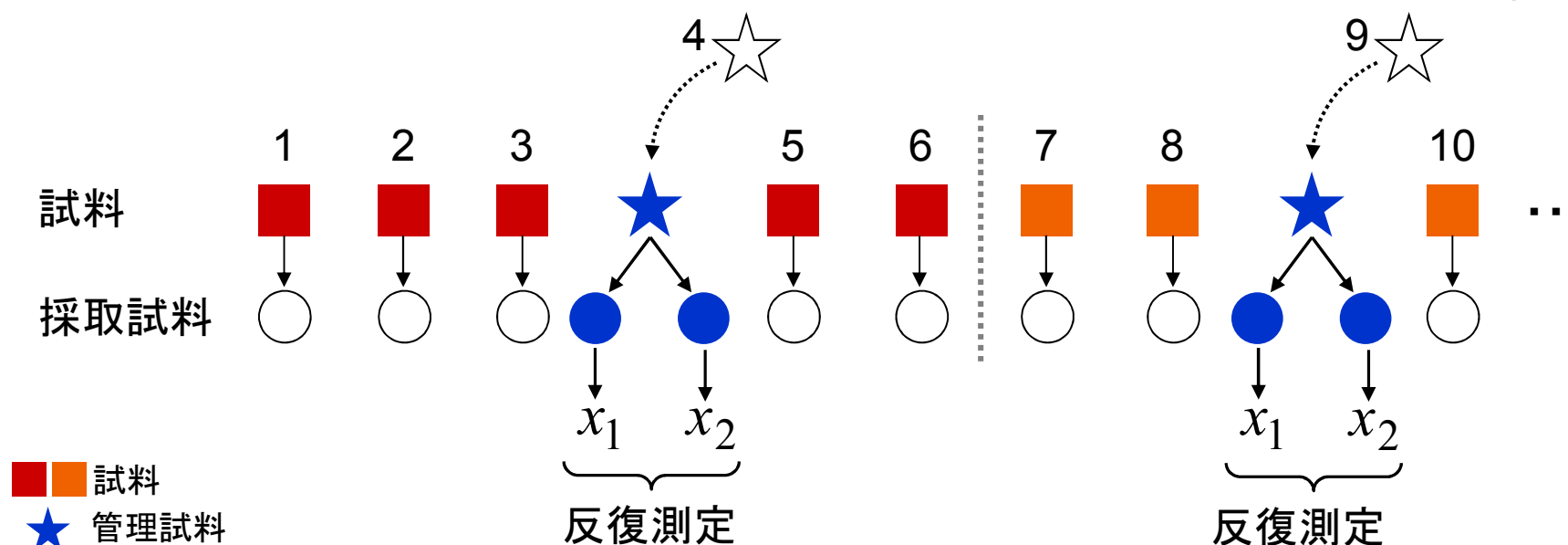
注意点

- ・ 反復測定する試料は無作為に選ぶ
- ・ 分析は試料採取の工程から独立して行う
同じ試料液で測定を二度行くと、ばらつきを過小評価してしまう。



- ・ 試料ごとに菌数が大きく変わる場合、単一の基準値を定めることができない
細菌検査の測定値は対数化するため許容範囲は比較的広く、平均的な菌数 ± 1 対数範囲程度であれば単一の σ_0 を使用できる

Harmonized Guidelines for Internal Quality Control 管理試料による真度及び精度の管理



試験品と併行して分析することで「真度」と「精度」を確認する

- ・ 管理試料を測定した結果を管理図(シューハート管理図)にプロットし、持続的な偏りとラン毎の影響の両方を監視する
- ・ 管理基準は管理試料の測定結果から設定する

管理図



管理試料(または添加回収試験)の測定値を「管理図」を使って可視化する。

- 1) R (又は R_s) 管理図を作成し、処置限界からの逸脱がないか確認する
- 2) \bar{X} 管理図又は X 管理図を作成し、警戒限界、処置限界からの逸脱がないか確認する。
- 3) 警戒限界からの逸脱があれば潜在的な異常の有無を確認する

処置限界からの逸脱があれば、対応する試験品の測定結果を破棄し、是正処置を行う。

シューハート管理図 \bar{X} - R 管理図



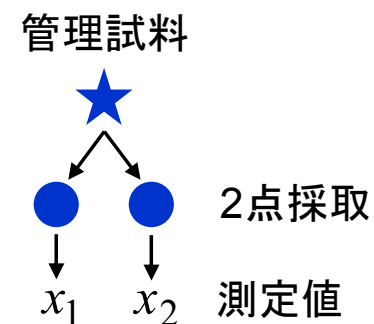
| n | 測定値 x_1 (対数) | 測定値 x_2 (対数) | 平均 \bar{X} | 範囲 R |
|-----|-------------------|-------------------|---------------------------------|---------------------------|
| 1 | 5.025 | 5.009 | 5.017 | 0.016 |
| 2 | 5.027 | 5.111 | 5.069 | 0.084 |
| 3 | 5.037 | 5.011 | 5.024 | 0.026 |
| 4 | 5.077 | 4.971 | 5.024 | 0.106 |
| 5 | 5.112 | 5.043 | 5.078 | 0.069 |
| 6 | 5.039 | 4.961 | 5.000 | 0.078 |
| : | : | : | : | : |
| 19 | 5.033 | 4.998 | 5.016 | 0.035 |
| 20 | 5.077 | 5.025 | 5.051 | 0.052 |
| 平均 | | | 5.046 $\bar{\bar{X}}$ | 0.061 \bar{R} |

\bar{X} 管理図・・・室内精度の管理

2つの測定結果の平均

R 管理図・・・併行精度の管理

2つの測定結果の範囲



R 管理図(範囲管理図)・・・併行精度の管理

【管理指標】

2測定結果の範囲

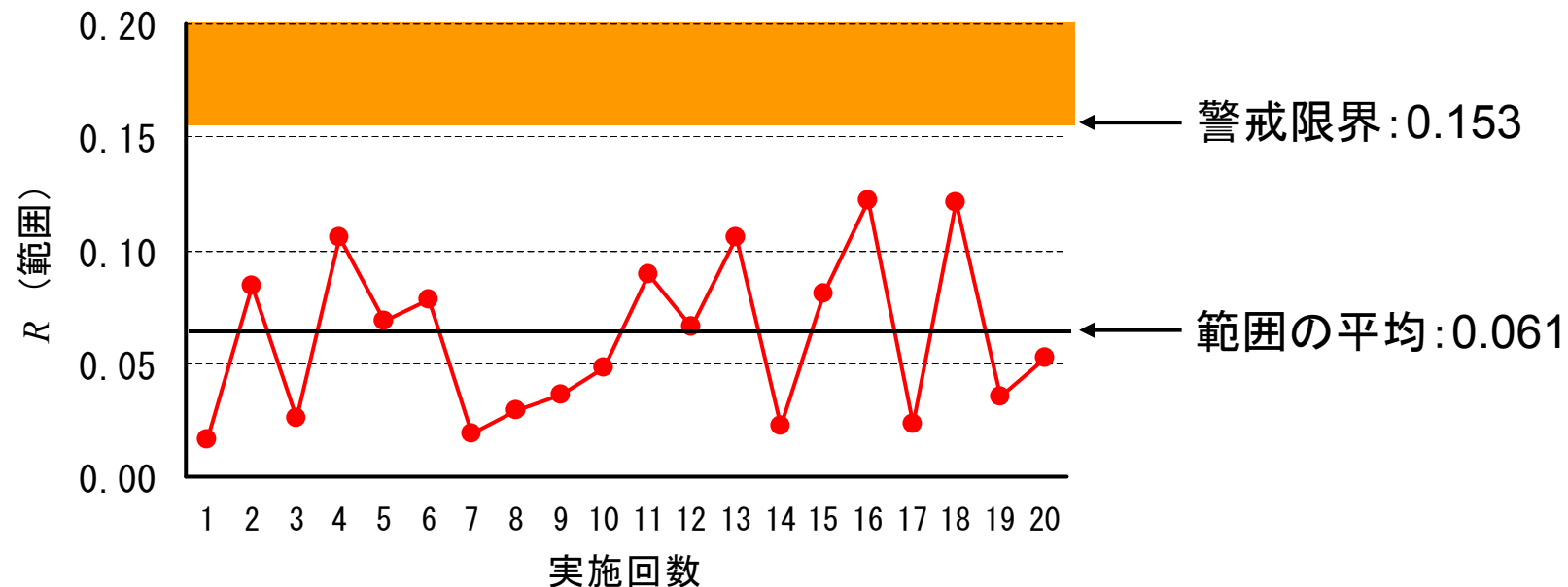
$$R = |x_1 - x_2|$$

【管理基準】

処置限界 $D_4 \times \bar{R}$

警戒限界 $\left\{1 + (D_4 - 1) \times \frac{2}{3}\right\} \times \bar{R}$

$$D_4 = 3.267$$



\bar{X} 管理図 (平均値管理図)・・・室内精度の管理

【管理指標】

2つの測定結果の平均

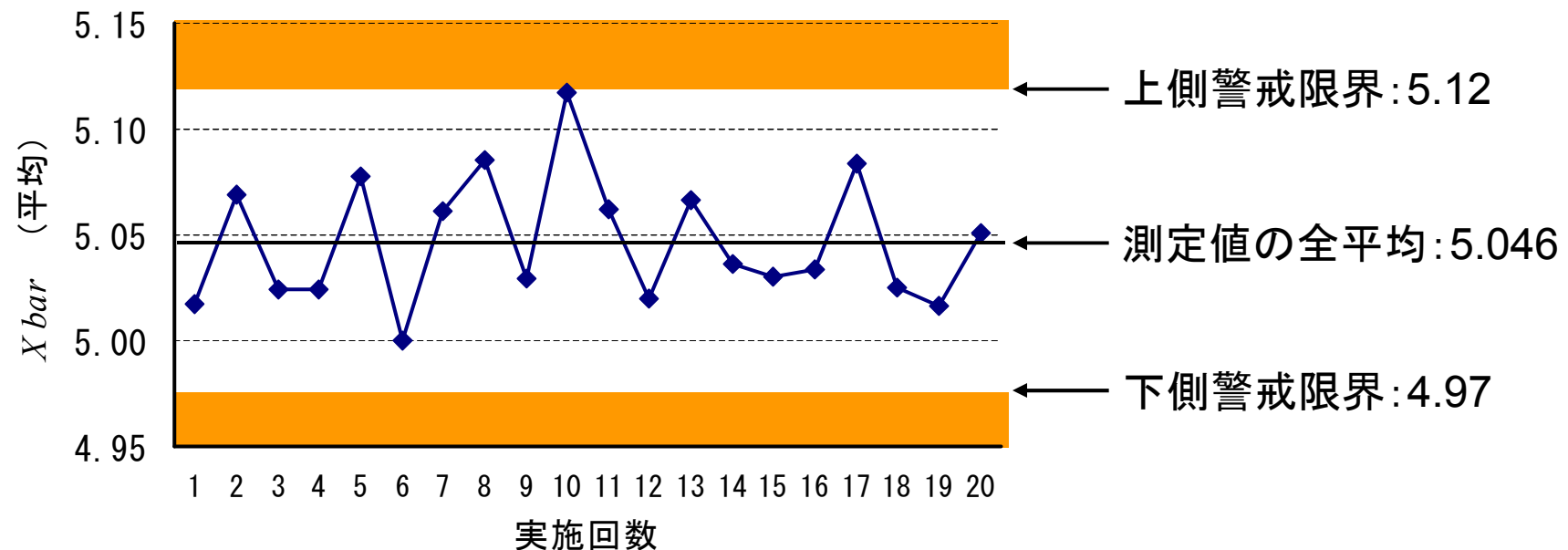
$$\bar{X} = \frac{x_1 + x_2}{2}$$

【管理基準】

処置限界 $\bar{X} \pm A_2 \times \bar{R}$

警戒限界 $\bar{X} \pm A_2 \times \frac{2}{3} \times \bar{R}$

$$A_2 = 1.880$$



5. 微生物試験における外部精度管理

第3者機関により定期的に試験室間の試験精度水準を評価し、その施設における試験結果の妥当性を客観的に確認するものである。

食品検査の信頼性確保__外部精度管理



- ★食品衛生法登録検査機関における食品衛生外部精度管理調査(一財 食品薬品安全センター)
- ★細菌検査技能評価試験(一財)日本冷凍食品検査協会
- ★ニッスイ製薬サーベイ
- ★栄研食品微生物検査精度管理サーベイ
- ★FEPAS (Food Examination Performance Assessment Scheme)
FERA, The Food and Environment Research Agency 英国
<http://www.fera.defra.gov.uk/>

食品衛生外部精度管理調査の実施項目

(一財 食品薬品安全センター)



■ 微生物学調査

| 調査項目 | 見立て食材 | 使用基材 |
|---------|-------------|-----------------|
| 一般細菌数測定 | 無加熱摂取冷凍食品 | カカオ外殻、そば粉、寒天状基材 |
| 大腸菌群 | 冷凍食品、魚肉練り製品 | マッシュポテト、つみれ |
| E. coli | 加熱後摂取冷凍食品 | マッシュポテト、ハンバーグ |
| 黄色ブドウ球菌 | 加熱食肉製品 | マッシュポテト |
| サルモネラ属菌 | 食肉製品、食鳥卵 | マッシュポテト、液卵 |

一財 食品薬品安全センターHPより抜粋

食品衛生外部精度管理調査の統計処理

(一財 食品薬品安全センター)



1. データ・クリーニングによる除外

各参加機関よりデータを回収した後、データ・クリーニングを行い、範囲を大きく外れたデータを除外します。

2. 2シグマ処理による除外

分布に極端なひずみやとがりが認められた場合、2シグマ処理(平均値 $\pm 2 \times$ 標準偏差の範囲を超えたデータを除外)を行った後、基本統計量等の算出を行います。

3. データの解析

得られたデータについてXbar-R管理図およびzスコアによる解析を行います。なお、Xbar管理図における管理線は理化学調査では添加量の70%および120%、微生物学調査では全体の平均値の30%および300%としています。また、zスコアによる解析では $|z\text{-スコア}| < 2$: 良好、 $2 \leq |z\text{-スコア}| < 3$: 改善措置が必要か否かの検討が必要、 $|z\text{-スコア}| \geq 3$: 改善措置の必要ありという判断基準に従っています。

細菌検査技能評価試験

(一財)日本冷凍食品検査協会



| | |
|------|---|
| 試験項目 | 生菌数(定量)・大腸菌群(定量)・E. coli(定性) ・黄色ブドウ球菌(定量) |
| 試料 | 牛乳を主な基材として調製した共通試料 (食品事業者様向けの専用試験試料) |
| 評価判定 | ISO/IEC 17043:2011 に準拠したZスコアによる判定 (但し、E.coliは定性評価) |

<http://www.jffic.or.jp/>

参考文献



CAC/GL 27-1997

“Guidelines for the assessment of the competence of testing laboratories involved in the import and export control of food”

CAC/GL 28-1995, Rev.1-1997

“Food control laboratory management recommendations”

Harmonized Guidelines for Internal Quality Control in Analytical Chemistry Laboratories, Pure & Appl. Chem. 67 (1995) 649-666.

「食品衛生法施行規則」昭和23年7月13日厚生省令第23号

「食品衛生検査施設等における検査等の業務の管理の実施について」平成9年4月1日衛食第117号
(別添)「精度管理の一般ガイドライン」

「登録検査機関における製品検査の業務管理について」平成20年7月9日 食安監発第0709001号
(別紙)登録検査機関における製品検査の業務管理要領

「食品衛生検査施設における検査等の業務管理について」平成20年7月9日 食安監発第0709004号
(別紙)食品衛生検査施設における検査等の業務管理要領

平成16年6月15日 食安監発第0615002号

「登録検査機関における食品検査の信頼性確保について」

「最新版 食品分析法の妥当性確認ハンドブック」ISBN978-4-905098-00-3 株式会社 サイエンスフォーラム

「食品検査施設の業務管理ハンドブック」ISBN4-8058-4047-1 中央法規出版 株式会社

「食品安全の辞典」ISBN978-4-254-43096-7 株式会社 朝倉書店

「平成22年度 食品衛生外部精度管理調査結果報告書-総括報告書-」財団法人 食品薬品安全センター 秦野研究所

ご清聴ありがとうございました。

(一財)日本冷凍食品検査協会では、食品試験の信頼性向上のための以下の技能評価試験を提供しております。

お気軽にお問い合わせください。

細菌検査技能評価試験

中国における細菌検査技能評価試験

放射性物質測定技能試験

<http://www.jffic.or.jp/proficiencytest>