

平成 11 年度内部精度管理調査(微生物部門)における 長崎県データの評価

田栗利紹

Estimation of Nagasaki Prefectural Data in Nationwide Internal Quality Control Investigation, 1999 (The microorganism department)

Toshitsugu TAGURI

Key word : internal quality control , recovery test , general guideline of quality control

キーワード: 内部精度管理, 添加回収試験, 精度管理の一般ガイドライン

はじめに

平成 10 年度より、地方衛生研究所の持つ科学技術的中核機関としての役割を強化するために、厚生科学研究「地方衛生研究所の試験検査機能の強化に関する総合的研究」が実施されてきた。

その中で、「科学的根拠及び情報を提供する試験検査機能の強化に関する研究」が分担研究として実施され、さらにその1部として「GLP を含む内部精度管理システムの構築に関する研究」(担当機関、徳島県保健環境センター、名古屋市衛生研究所)が、平成 10 年度より3ヶ年計画で始まった。

本研究は、「GLP を含む内部精度管理システムの構築に関する研究」の微生物部門として、平成 11 年度に実施された調査の長崎県データを評価したものであり、その中で若干の知見を得たので報告する。

材料及び方法

1 材料の由来

材料は、全て事務局である徳島県保健環境センターから送付されたものを用い(表1)、精度管理の一般ガイドライン¹⁾に沿って実施した。図 1 に、今回実

施した内部精度管理作業フローを示した。試料は、試験実施するまで冷蔵保存した。

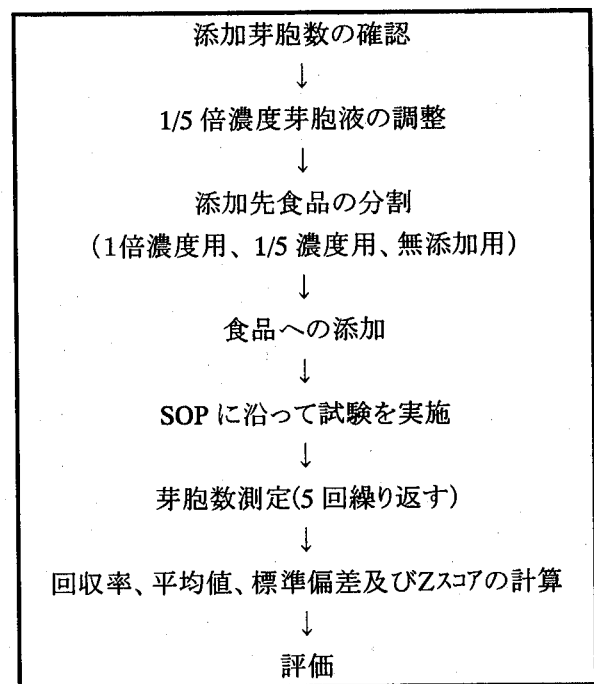


図 1 内部精度管理作業フロー

表1 徳島県保健環境センターより送付された材料の形状及び重量

食品の種類	食品の形状と重量	添加細菌*の形状と重量
UHT 処理牛乳	液体, 1L	芽胞希釈液, 約 1.5ml
脱脂粉乳	粉末, 500g	芽胞末*, 約 1.5g
レトルト食品	液体, 210g	芽胞希釈液, 約 1.5ml

*添加細菌 は、*Bacillus subtilis* ATCC6633 (栄研化学, 製造番号 93003)を用い、芽胞末は乾燥後、乳糖に混合した

表2 添加細菌の事務局申告値と確認値および減少率

添加細菌の形状と種類	事務局申告値	確認値	減少率*(%)
牛乳用芽胞希釈液:(cfu/ml)	$(1.8 \pm 0.17^*) \times 10^7$	1.43×10^7	20.56
脱脂粉乳用芽胞末:(cfu/g)	$(4.9 \pm 2.0^*) \times 10^7$	3.08×10^7	37.14
レトルト食品用芽胞希釈液:(cfu/ml)	$(8.4 \pm 0.68^*) \times 10^7$	2.09×10^7	75.12

※ ave.± std., 減少率 = |申告値 - 確認値| / 申告値

2 芽胞液の調整

表1に示したように、送付された添加細菌量が少なかったため、まず全量を10倍希釈して標準試料とした。さらに1/5倍希釈液を調整した後、両者の芽胞数を計測して確認値とした。操作は全て無菌的にとり扱った。表2に、事務局が申告した値、当所で確認した値およびそれらから計算した減少率を示した。減少率は、事務局申告値と確認値との差を事務局申告値で除して表した。

3 食品の調整

添加先の食品は、各々3分割し、あらかじめ高压蒸気滅菌、乾燥させた1L用採材瓶3本に、標準添加用、1/5濃度液添加用、無添加用に分けて移し替えた。レトルト食品については、全量が少ないため標準添加用と無添加用のみとした。

4 試料の調整

小分けした各食品に、標準添加液1ml、1/5濃度

添加液1ml(レトルト食品を除く)を添加し、回収用試料とした。無添加試料と共に、食品ごとのSOPに沿って5回ずつ繰り返して検査を実施した。測定は、全て同一人が行った。

5 測定値の計算

添加量は、実際の添加量から計算される食品1gあたりの芽胞数で示した。5回繰り返して実施した後に、各検査結果の食品1gあたりの芽胞数を求めて測定値とした。各測定値の添加量に対する回収率を求めた。Zスコアは測定値と平均測定値の差を測定値の標準偏差で除した値、CV値(変動係数)は測定値の標準偏差を平均測定値で除した値で表した。成績は測定値、回収率およびZスコアにおいて各々の平均及び標準偏差で示した。(表3)

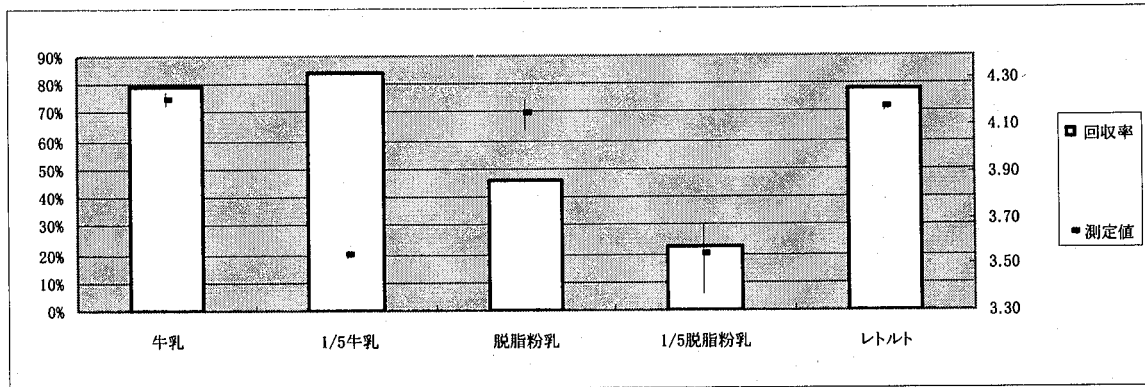
表3 食品の内部精度管理試験成績

	牛乳		脱脂粉乳		レトルト	
	標準添加	1/5濃度液添加	標準添加	1/5濃度液添加	標準添加	
添加量(sfu/g)	2.04E+04	4.09E+03	3.05E+04	1.01E+04	1.91E+04	
測定値	平均値(sfu/g)	1.63E+04	3.43E+03	1.41E+04	3.50E+03	1.49E+04
	標準偏差	1.10E+03	3.61E+01	2.01E+03	1.14E+03	4.33E+02
回収率	平均値	79.7%	83.8%	46.3%	22.1%	78.2%
	標準偏差	5.4%	0.9%	6.6%	11.2%	2.3%
Zスコア	平均値	0.72	0.66	0.76	0.85	0.69
	標準偏差	0.59	0.67	0.52	0.29	0.63
CV値	6.7%	1.1%	14.3%	32.6%	2.9%	
実施回数	5	5	5	5	5	
測定者数	1	1	1	1	1	

sfu(芽胞形成単位) = spore forming unit, Zスコア = |測定値 - 測定値の平均| / 測定値の標準偏差

CV値(変動係数) = 測定値の標準偏差 / 測定値の平均 × 100

図2 食品および添加量ごとの回収率(平均)と測定値(平均±標準偏差, 対数値)



結果

添加細菌の芽胞数は、3食品共に事務局申告値に比べ少く、20～75の減少率を示した。成績は材料の形状に関係なく、レトルト食品で最も高い減少率を示した(表2)。

表3に食品ごとの内部精度管理試験成績を示した。無添加試料は3食品共に陰性であった。回収率において、牛乳とレトルト食品ではほぼ80%に近い値を示したが、脱脂粉乳では、標準添加試料および1/5濃度添加試料で、それぞれ46.3%と22.1%であり、共に低い値を示した。Zスコアにおいて、平均、標準偏差共に食品ごとの差は認められなかった。CV値で、牛乳とレトルトでは全て10%以下であったが、脱脂粉乳で標準添加試料および1/5濃度添加試料共に、10%を超える高い値を示した。

図2に食品および添加量ごとの回収率(平均)と測定値(平均±標準偏差)を示した。牛乳とレトルト食品は回収率80%近い値を示し、測定値のばらつきもほとんど見られなかった。脱脂粉乳は、標準添加試料および1/5濃度添加試料、共に回収率が低く、測定値のばらつきが他の食品に比べて大きかった。

考察

添加細菌の芽胞数の減少は、回収試験に先立つ添加菌数確認の必要性を示唆していると考えられた。今回の試験のように、事務局申告値と確認値が異なる可能性は十分考えられ、回収試験は添加量と回収量が同一試験系で測定されたもので評価される必要があると考えられた。また、送付菌量が少なかったため10倍希釈液で作業したことも申告値と確認値が異なった一因であると思われる。

食品ごとの回収率及び測定値のばらつきの差は、材料の形状によるものと思われた。即ち、牛乳及びレトルト食品は液状であり、添加菌も液体培地に懸濁さ

れていた。脱脂粉乳は、食品、添加細菌共に形状が粉末状であった(表1)。ここで、試料の調整は、25回以上(用手)あるいは1分以上(シェーカー)の混釈を指示していて、牛乳、レトルト食品および脱脂粉乳においてSOPに差は認められなかった。従って、試料が粉末状の場合は液状の場合に比べて、均一化が難しいと考えられ、試料が粉末状の場合は、より多くの混釈が必要であると考えられた。

各食品で、標準添加と1/5濃度添加の差は認められなかった。金子²⁾が指摘するとおり、1/5濃度液の調整は、手間がかかり、汚染の可能性を増加させるだけでなく、細菌数測定のように対数値で評価する検査では意味をなさないと考えられた。

Zスコアは、3食品の間に、平均と標準偏差で差を認めなかった。これは、今回の実施人員が一人であることが原因であり、Zスコアは今回のような食品間の精度の指標としては不適切であると考えられた。大隈³⁾によれば、Zスコアは試験数nが大きく全体の確率分布が正規分布に従う場合に有効な指標とされる。今後、試験数や実施検査員の数が大きくなれば有効な指標となると考えられた。

CV値は、脱脂粉乳と、牛乳およびレトルト食品の間に明瞭な差を認め異なる材料間の精度管理指標として有効であると考えられた。

まとめ

今回の試験成績より次のことが考えられた。

- 1)送付試料は、食品、添加細菌共に、分配しやすい材料を選択し、送付先で作業可能な必要量を送付する。
- 2)食品の形状が粉末状の場合、混釈を十分行うよう周知する。
- 3)内部精度管理の指標として、材料が異なる場合には、測定値の平均および標準偏差、回収率およびC

V値が有効である。

4)1/5 倍濃度菌液の調整は細菌測定の精度管理には不必要である。

参 考 文 献

- 1) 厚生省生活衛生局食品保健課長通知: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,別添精度管理の一般ガイドライン,衛食第117号,(1997)
- 2) 金子誠二:細菌学的検査における内部精度管理の実施について,平成10年度食品衛生検査施設信頼性確保部門責任者研修会資料,厚生省生活衛生局食品保健課主催,51~58,(1999)
- 3) 大隈昇:精度管理における統計的データ解析,平成10年度食品衛生検査施設信頼性確保部門責任者研修会資料,厚生省生活衛生局食品保健課主催,19~41,(1999)