

- 動作特性曲線の作成および解釈の方法
- 食品中の微生物の分布および標準偏差に及ぼす仮定の影響
- 移動窓の長さの設定の方法
- 他の関連事項

この要請を考えるに当たって、FAO および WHO はこの問題に関して利用可能な豊富な情報に注意し、別の教本を作成する必要は無く、コーデックス本文の、実施に関係する面に注目する文書を作成する必要があると考えた。さらに、作成する文書はいずれも、統計学的教育が限られているが一旦その問題に明瞭に、難解な用語無しに導入されれば重要な要素を速やかに把握し始めることができる読者にとって理解可能である必要があると考えた。このように、問題はこの主題について存在する膨大な量の情報を利用すること、およびそれをどの国の食品安全専門家にも理解できる簡潔な文書に変換することであった。

これに対して、FAO/WHO はその主題に関する専門家会合をローマで開催した(2013年10月8～10日)。専門家会合は、本文書のための枠組みは一連の質問および回答から構成されること、および本文書は会話体でくだけた形式とすることを決定した。質問、および本文の主要部分は、専門家会合全体の経験および専門知識を用いて作成された。会議後に、本文、例、ガイドスプレッドシートおよびマルチメディア資料がさらに作成され、その後、原稿は学界、規制当局および食品企業からの外部専門家の査読を受けた。

本文書について

本文書の背景および様々なコーデックス本文とのつながりを考慮すると、本文書を下記を含む重要なコーデックス本文と併せて読むことが推奨される。

- Principles and Guidelines for the Establishment and Application of Microbiological Criteria Related to Foods (CAC, 2013a)
- Guidelines for Food Import Control Systems (CAC, 2006)
- General Guidelines on Sampling (CAC, 2004)
- Principles and Guidelines for the Conduct of Microbiological Risk Management (CAC, 2008a)
- Guidelines for the Validation of Food Safety Control Measures (CAC, 2008b)
- Codex Alimentarius Commission, Procedural Manual (CAC, 2013b)

本文書の作成に当たって、資料の取捨選択に関して決断しなけりばならなかった。除外された側面および除外理由を下記に要約する。

1. **基本的な統計学的考え方:** サンプル平均、標準偏差、信頼区間、および統計分布の説明に関する情報は除外された。これらは既存の教本、例えば Moore et al. (2012), Bower (2013) または付録 A2 に示すウェブリソースの一部にすでに適切に含まれているからである。

2. サンプルングに関する発展情報:より発展したサンプルングプラン、例えば逐次および多回サンプルングプランには、平均的に必要なサンプル単位がより少数であるという利点がある。しかし、サンプル単位の採取から検査結果を得るまでの間の時間差のため、それらは微生物について検査する場合には通常は実行可能でない。そのようなサンプルングプランについての情報は、例えば、Montgomery (2012)および Schilling and Neubauer (2009)に見られる。
3. 微生物学的基準を設定するための方法：本文書は、MC の統計的側面を中心とするため、MC の役割またはそれらが設定されている可能性のあるリスク管理シナリオの、より幅広い問題には触れない。MC の設定に関する情報は他で、例えば関連するコーデックスガイドライン(CAC, 2013a)、ICMSF (2002)に含まれており、本文書の範囲外である。特に、このことは、各サンプルングプランの最後の、サンプルングプランの設定の統計的側面だけを扱う“まとめると-...”と題した項を読む際に注意すべきである。
4. リスクに基づく微生物学的基準。MC を作成するためのいくつかの方法があり、それにはリスク評価(リスクに基づく MC が結果として得られる)が含まれる。しかし、最も適切な方法は、具体的な状況に依存する。例えば、リスク評価を実施することは非常に時間がかかり資源集約的である可能性があり、国内規制当局のほうに個別の食品事業者よりもふさわしい可能性が高い。
5. 微生物学的基準と達成目標値または摂食時食品安全目標値との結合。MC を達成目標値または摂食時食品安全目標値といったリスクに基づく数的指標と結合させることはリスクに基づく管理の重要な特徴であると認められていた一方、これらの側面はCCFHからの要請の一部ではなかった。さらに、これらの側面を含めることは相当な追加の作業を必要としただろうことが認められ、別に将来の文書で扱われる。
6. 工程管理試験/国内ベースライン調査。MC の適用およびベースライン調査は共にサンプルングを含む一方、それらは目的が異なる。MC および随伴するサンプルングプランはロットを合格または不合格とするために用いられ、工程検証を補助するために利用できる。対照的に、ベースライン調査は、原産国などのような変動の様々な原因を考慮に入れた、特定の食品製品または商品中の微生物学的汚染の程度(汚染率、平均および標準偏差)を推定するのに用いられる。これはMC を作成するために必要な情報を集めるのに利用できる。このように、基本的な統計学的考え方の一部は同じである一方、これらの考え方のベースライン調査への適用はここでは触れられていない。

個々のサンプル単位を構成する食品の量を考察する際、サンプル単位量という用語が本文書を通じて使用される。同様に、微生物学的検査に用いられる食品の量は分析単位量と呼ばれる。これらの用語は一般性を失うことなく使用され、重量(g 当たり)、体積(mL 当たり)または面積(cm² 当たり)に基づくサンプル単位に適用される。特定の例に言及する場合、より具体的な用語、例えばサンプル単位重量および分析単位重量が使用されうる。

最後に、百分率が確率を示すために用いられていることに注意する。この方法は数学的な意味（確率は0～1の割合として表される）では厳密には正しくないがこの方法が我々の標的の読者のために、資料の読みやすさおよび理解を助けることが望まれる。

第1部:食品中の微生物およびサンプリングに関する基本的考え方

1.1 なぜ食品をサンプリングおよび微生物学的検査するのか

食品中のある種の微生物の存在は、公衆衛生および消費される食品の品質に影響を及ぼしうる。このため、様々な微生物について食品をサンプリングおよび検査することは、大部分の食品安全および品質システムの共通部分である。食品企業における微生物学的サンプリングの主な利用は下記の通りである。

- **遵守検査:**公衆衛生規制当局はしばしば市場の食品製品を、例えば一部のそのまま摂食可能な (ready-to-eat(RTE)) 食品中のリステリア菌といった国内食品安全規格の遵守についてサンプリングおよび検査する。食品製造業者は時に、製品の市場への発売前に、“検査と留め置き”を用いて遵守を示す。
- **輸入および輸出証明検査:**食品安全規制当局は、例えば米国への輸出前のウシくず肉中の大腸菌 O157 のような、公衆衛生の対象の病原体について輸入/輸出の前に食品製品のサンプリングおよび検査を求めうる。
- **商業供給協定:**商業協定はしばしば、納入業者が満たす必要のある微生物仕様基準を含む。納入業者は出荷前に製品をサンプリングおよび検査することによって遵守を示す必要がありうる(“検査と留め置き”)一方、顧客は遵守を確認するため製品を無作為にサンプリングおよび検査しうる。
- **工程検証:**食品製造業者はサンプリングおよび検査を用いて、食品生産工程が管理されていて意図通り働いていることを示すことができる。

1.2 食品中の微生物集団の特性について何を覚えておく必要があるか

食品を微生物学的検査するための様々な理由にかかわらず、検査プログラムの有効性の理解に必須であるいくつかの共通要素がある。

目的の微生物を検出できることは、食品の汚染程度が高い場合には相対的に易しい。しかし、微生物のレベル、つまり濃度が低下すると、微生物を検出するのは、微生物が存在するという事実にかかわらずますます困難になる。これは微生物の微粒子状の性質を反映しており、それは非常に低い濃度では、与えられたサンプル中に微生物が存在しないという明白な可能性があるということの意味する(図1)。これは化学汚染物質とは異なり、化学汚染物質は一般に、食品製品全体に、または少なくとも試験室サンプル調製中の均質化後の分析単位の中には、より均一に分布していると考えられる。

従って、多くの場合で食品ロット中のすべての単位のうち一部だけが標的微生物を含む。食品安全、疫学および公衆衛生領域では、この現象(時に技術用語で欠陥率と呼ばれる)は汚染

率として一般に知られ、一方で不良率またはパーセント不適合品率が許容サンプリングおよび統計的工程管理においてしばしば用いられる用語である。我々は“汚染率”の用語を、通常は病原体で、汚染されたロット中の食品単位の実際の未知の割合を示すのに用い、および“分析単位検出確率”、または単に“検出確率”の用語を、特定の微生物学的検査および分析単位量を用いて、サンプルから得られた推定を示すのに用いる(“1.2.6ランダムサンプリングとは何か、そして代替法は何か”および図 4も参照)。

上記に示す通り、微生物を検出することは、汚染率が低いほど難しくなる。例えば、汚染率 50%(すなわち 2 食品単位のうち 1 食品単位が標的生物を含む)ならば、3 または 4 単位だけをサンプリングする場合でも、食品の汚染された単位を選択する(および従って微生物を検出すること)を確信するだろう。逆に、汚染率わずか 1%(すなわち 100 食品単位のうち 1 食品単位が当該微生物を含む)ならば、同様のレベルの信頼を得るためには、はるかに多数の単位の食品をサンプリングしなければならないだろう。例えば食品単位の 1%だけが汚染されているならば、95%検出確率を達成するためには約 300 単位が必要である。言い換えると、工程がより管理され食品の汚染の程度が低下するにつれ、微生物をサンプリングによって発見することは難しくなる。従って、標的生物がもし存在すれば検出するには、または標的生物が事実存在しないかまたは非常に低レベルで存在するだけであるという高い信頼を得るには、例えば遵守を検証するには、分析単位の数またはサイズを増やすことが必要である。これは病原性微生物の直接検出において限定要因となり、ゆえにサンプリングを食品の安全性を‘管理’する方法として用いる際に有用性を欠く。

このため、病原体汚染レベルが低い場合、代替りの方法は、衛生指標生物を用いて、病原体での汚染に繋がる機会の増加がありうる加工条件を特定することである。衛生指標とは、典型的には病原体よりも大幅に高い濃度で食品中に存在する微生物である。検査方法はこれらのレベルを定量し、それによって微生物の単なる存在でなく濃度に基づいて決断することを可能にする。しかし、時には衛生指標の存在/非存在を利用して特定の工程の有効性を判定できる。例えば、有効な熱加工は食品からいかなる衛生指標も除去すべきであり、衛生指標の存在は工程故障を示しうる。微生物の定量はまた、例えばリステリア菌(その増殖を支えない食品中で)、カンピロバクター属菌、黄色ブドウ球菌、または病原性腸炎ビブリオ菌といった、一部の食品に公衆衛生リスクを生じることなく高濃度でしばしば存在しうる特定の病原体について重要でありうる。

覚えるべき重点は、微生物学的試験法および基礎となる統計学は、高レベルの微生物を定量するために対して低レベルを存在/非存在検査によって検出するためでは異なることである。これらの方法は異なる量の情報を生じ、従って、受入れサンプリングおよび工程管理への適用のための随伴する統計学的考慮もまた異なる。

1.2.1 微生物学的検査は化学的検査とどう違うのか

微生物学的検査方法の重要な側面は、*検出下限*という概念である。この概念は化学物質の分析が起源であるが、微生物の検出には直接適用できない。この場合、微生物の数が非常に少ない時は、この方法で可能なのは、検査の結果を決定する微生物を検出することでなく、分析した分析単位中に実際に菌が存在する確率である。例えば、ある方法が $10\mu\text{l}$ を分析しおよび微生物が ml 当たり菌 1 個のレベルで存在するならば、 $10\mu\text{l}$ が微生物を含む確率は(およそ)100 分の 1、つまり 1%である(図 1)。これは微生物の微粒子状の性質の結果である。

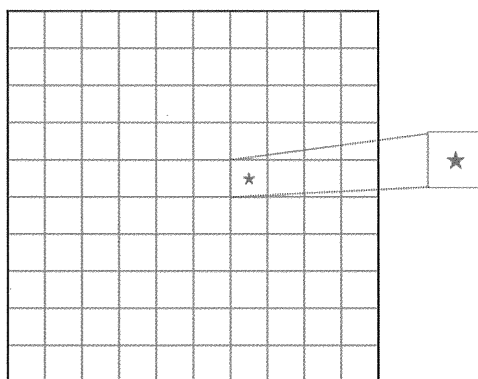


図 1:微生物 1 個を含む食品サンプル 1ml の図。そこから小さい四角で示す $10\mu\text{l}$ の分割量を、検査、例えば平板播種のために選択 (部分採取) する。微生物を含む分割量が選択された場合だけにしか(引き伸ばし参照)微生物は検査中に発見されない。

この現象は、化学的検査と微生物学的検査の間で“均一”という用語の意味の解釈に重要な違いを生じる。どちらの場合も、食品サンプルは試験室で、汚染がサンプルマトリクス全体を通じて可能な限り均一になるように徹底的に混合される。この工程は均質化と呼ばれ、ブレンダー、ストマッカーまたは同様の装置が関与しうる。これは一般に化学汚染物質については非常に良好に作用し、この背景における解釈は、汚染はサンプルマトリクス全体を通じて(ほぼ)均一であるということである。

対照的に、均質化された微生物学的サンプルは、サンプルマトリクス全体を通じて‘浮遊する’標的微生物を有する。この場合、平板播種のための分割量の選択の工程は偶然性の要素を伴い、従って各サンプルまたは部分サンプル中に異なる数の微生物が見つかる確率を伴う。時には平板上に微生物 4 個を得るかもしれない、時には 5 個、または 11 個、または 1 個、または 0 個かもしれない。しかし、サンプルが微生物学的な意味で均質であるならば、複製プレートからの菌数は、統計学用語ではポアソン分布に従う、ランダムパターンを取る(例えば図 2c に後掲の通り)。実際、この性質は微生物学的検査のための最確数(MPN)法の基礎となる(Cochran, 1950)。

覚えるべき重点は、微生物の微粒子状の性質のため、微生物学的背景における均質性は、均一性すなわち分析単位全体を通じた一定レベルを意味しないことである。

1.2.2 微生物は食品中にどのように分布するか

微生物は食品ロットまたは工程全体に様々なパターンで(空間的または時間的な意味で)分布

しうる。これらは、微生物増殖/死滅、および例えば成分の添加および混合または最終製品の充填および包装といった生産中に行われる食品加工の種類によって影響される。様々な機構の良い説明を、International Life Sciences Institute Europe Risk Analysis in Food Microbiological Task Force (Bassett et al. 2010) によって作成された文書に見ることができる。

食品中の微生物の二次元的分布の三つの例（規則的、集中的および不規則）を図 2. に示す。これらのパターンは、微生物の微粒子状の性質、および微生物学的検査はどのように働くか（“1.2.1 微生物学的検査は化学的検査とどう違うのか”参照）のために起こる。下記の一覧は、これらの三種類の汚染が食品でどのように起こりうるかの理想的な例を示すが、実際の食品サンプル中の微生物パターンは、これらの三つの理想例の組み合わせでありうる。

- *規則的汚染*は、例えば汚染されたフィルターヘッドのような、生産工程における汚染事象の結果でありうる。規則的汚染は、汚染された単位間の間隔と、また、汚染された製品中の微生物の数と関係する可能性がある。結果として、規則的汚染は、ロット中の汚染された単位の高い汚染率、および濃度の低変動によって特徴付けられる。
- *不規則汚染*は通常は徹底的な混合または汚染事象が不規則に起こる場合の結果である。汚染には特定のパターンが無く、そのことは原因を見つけるのを困難にしうる。微生物学的背景ではこれは均一な汚染を結果として生じうる（“1.2.1 微生物学的検査は化学的検査とどう違うのか”参照）
- *集中的汚染*は汚染事象とその後のいくらかの微生物の増殖および製品の限られた混合の結果でありうる。結果として、個々の菌は食品中に大きく広がっていない。結果として、ロット中の汚染された単位の汚染率は低く濃度の変動は高い可能性がある。

これらの異なる空間的パターンは、汚染パターンを数学的に記述する統計分布の違いに繋がり、およびこれらの分布についての詳細な情報もまた ILSI 文書(Bassett et al.2010) に見ることができる。

覚えるべき重点は、微生物が食品製品全体にどのように分布するかを一般化するのは不可能であるが、工程および汚染の機構についての知識は適切な統計分布および適切なサンプリングプランを決定するために重要となることである。

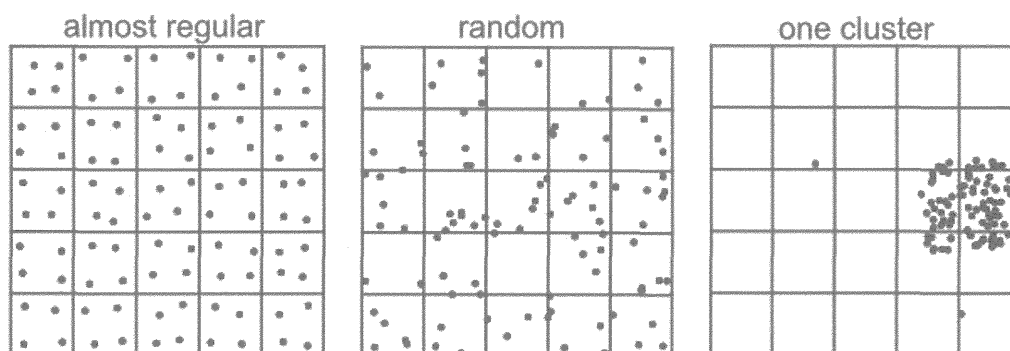


図 2:食品 25 分割にわたる 微生物 100 個の空間的分布の例。

出典: Jongenburger et al. 2012a - Food Control の許可を得て複製。

この研究は Risk Analysis in Food Microbiology Task Force of the European branch of the International Life Sciences Institute (ILSI Europe) の委託による。

ほぼ規則的／不規則／1 集団

1.2.3 なぜ log10 を使うのか、およびなぜその解釈に注意が必要なのか

微生物は二分裂することによって増殖し、結果として各増殖サイクルに微生物の数は 2 倍になる。例えば、微生物 1 個は増殖して 2 個、次いで 4、8、16、32 個、などとなる。これは指数増殖として知られ、適切な条件下では結果として微生物相の急速な増大を生じうる。例えばグラム当たり微生物 10 億個つまり 10^9 cfu/g のように、微生物相は大きくなりうるため、食品微生物学者は通常、真数 arithmetic numbers を対数に変換してデータ解析および解釈を簡単にする。任意の log 変換がこれを達成する一方、対数の底 10(log10)は解釈が簡単であり食品微生物学に通常用いられ、それに比較して対数の底 e(ln)または対数の底 2(log2)が他の科学領域で通常用いられる。例 1 に示す通り、この変換は Excel で関数 log10、または単に log を用いて行うことができ、対数から真数への逆変換は 10^x を用いて達成できる。

例1:log₁₀との変換

下記の表はいくつかの常用対数の早見表である。

真数	log ₁₀
0.01 = 10 ⁻²	-2
0.1 = 10 ⁻¹	-1
1.0 = 10 ⁰	0
10.0 = 10 ¹	1
100.0 = 10 ²	2
1000.0 = 10 ³	3

150 cfu/gの値をlog₁₀目盛へ変換した結果2.176 log₁₀ cfu/gとなる。真数と対数との間の変換はExcelまたはLibreOfficeでは下記の式を引用符内に、表のセル内に書くことによって実行できる。

- log₁₀へ変換: “=log₁₀(150)”
- log₁₀から変換: “=10^2.18” (厳密に150ではなく、小数点以下の桁数を増やすとより近い結果を与える)
- 最後に、微生物学的検査の精度を考慮すると、最終結果を報告するには小数点以下1桁で十分であるが、すべての中間の計算段階のために少なくとも2桁(以上)を含めるべきである。

この計算を行う方法を示す動画は下記参照。

<http://youtu.be/mGNRmGDgNOU>.

しかし、このlog変換は、結果を理解していない場合、混乱の元になりうる。例えば、微生物相における増加や減少の効果を計算するために対数を足し算または引き算することは普通であるが、しかしそうすることは、例2にそれぞれ示す通り、元の真数値を掛け算または割り算するのに等しいことを忘れてはならない。

例2:分析単位をlog₁₀濃度でまとめる効果

食品のある10g単位がある微生物の濃度10,000 cfu/g (4 log₁₀ cfu/g)であり、別の10 g単位が同じ微生物の濃度1,000 cfu/g (3 log₁₀ cfu/g)である。2つの分析単位は当該微生物のそれぞれ合計100,000 cfuおよび10,000 cfuを含む。

これらの2つの単位を混合すると、その結果、食品20g中に合計110,000 cfu (1.1×10⁵ cfu)となる。これは2つの真数(100,000と10,000)を足し算することによって得られ、ゆえに濃度(20gで割る)は110,000/20 = 5,500 = 5.5×10³ cfu/g (or 3.74 log₁₀ cfu/g)に等しい。

2つの常用対数(4 log₁₀ cfu/gと3 log₁₀ cfu/g)を足し算して混合サンプルの濃度は7 log₁₀ cfu/g (すなわち10,000,000 cfu/g)と結論するのは間違いとなる。また、2つの等しい量の混合物の最終濃度が2つのlog₁₀濃度(3 log₁₀ cfu/gと4 log₁₀ cfu/g)の平均を取ることで推定できるとすること、最終濃度が3.5 log₁₀ cfu/gとなるとすることもまた間違いとなる。log目盛上で取られたこの平均値は、3,162 cfu/gに等しいが、真の平均値5,500 cfu/gを誤って過小評価している。これらの誤差の規模は非常に大きくなる可能性があり、避けなければならない。

実際、常用対数で1単位の増加は算術目盛で10倍の増加に等しく、例えば2 log₁₀ cfu/gから3

\log_{10} cfu/gへの増加は100 cfu/gから1000 cfu/gへの増加に等しい。同様に、常用対数で1単位の減少は算術目盛で10倍の減少(例3)、つまり90%減少に等しく、例えば3 \log_{10} cfu/gから2 \log_{10} cfu/gへの減少は1000 cfu/gから100 cfu/gへの減少に等しい。重要なことには、この効果は開始濃度に依存しない。

例3: \log_{10} 増加と減少の解釈

ある抗生物質処置が食品製品中の微生物濃度の2-log低下を達成することが示された。これは処置の結果として微生物の99%が除去または不活化されたことを意味する。この低下は開始濃度が4 \log_{10} cfu/gか2 \log_{10} cfu/gかに依存しないことに注意する。

同様に、3 logの低下は99.9%低下に等しく、4 logは99.99%低下に等しい、など。例えば、12 logの低下は、缶詰業でボツリヌス菌芽胞を不活化するために工程基準に一般に利用されるが、99.9999999999%低下である。

特に重要なのは、食品製品における微生物汚染を特徴付けるために用いられる統計分布に及ぼすそのような対数変換の効果であり、それはMCを作成する際に考慮に入れなければならない。食品中の微生物集団はしばしば \log_{10} 正規分布²を用いて記述され、それは図3aに示す右に歪んだ分布である。 \log_{10} 正規分布(図3a)に従う数の \log_{10} 変換を行う場合(例1も参照)、 \log_{10} 値は正規分布を取る(図3b)。従って、 \log_{10} 変換は微生物学的データを分析するのに有用であり、なぜなら例えば信頼区間、回帰分析、t検定および分散分析といった様々な古典的統計方法を正規分布するデータに適用できるからである。従って、菌数はまず \log_{10} 変換すべきであり、その後これらの変換された菌数の平均および標準偏差を計算する。さもなければ、右側に歪んだ分布の性質が、これらの2つの統計を“膨らませ”、その結果として間違った答えを生じうる。

²一部の微生物学テキストでは、この分布は時に単に正規対数または対数正規分布と呼ばれ、自然対数(ln)を変換の基礎として用いる統計学テキストで使われる対数正規分布と混同してはならない。

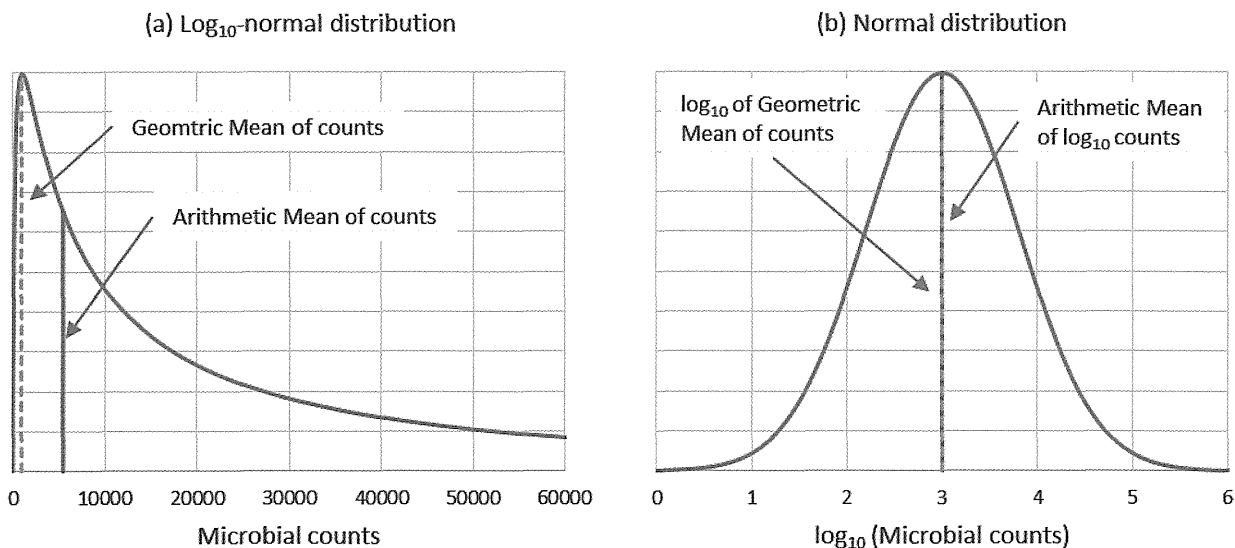


図 3: \log_{10} -正規分布(左)および正規分布(右) のプロット。 \log_{10} 変換の説明については例 1 も参照。幾何平均および算術平均を、例 4 に示すそれらの特別の関係のために、これらのプロット中に示す。

(a) \log_{10} -正規分布

- 菌数の幾何平均
- 菌数の算術平均
- 菌数

(b) 正規分布

- 菌数の幾何平均の \log_{10}
- \log_{10} 菌数の算術平均
- \log_{10} (菌数)

しかし、計算された統計（平均値および標準偏差）を変換して算術目盛に戻す際、および対応する値がどのように解釈されるかには注意しなければならない。平均 \log_{10} 菌数を、直接指数化によって、算術目盛へ変換する誘惑にかられる。しかし、これは食品中の微生物の“平均”数の過小評価と、算術平均に基づくその後のリスクの解釈の誤りに繋がる(図3および例 4参照)。 \log_{10} 菌数の平均値からの算術平均の適切な計算はガイドスプレッドシートを用いて行うことができる。

例 4: 算術目盛と \log_{10} 目盛の平均値の関係

平均値3および標準偏差0.8 \log_{10} cfu/gの \log_{10} -正規分布に従う食品中の微生物濃度を考える。すなわち、 \log_{10} 目盛上では分布は平均値3 \log_{10} cfu/gおよび標準偏差0.8 \log_{10} cfu/gの正規分布である(図3b参照)。

\log_{10} 目盛値の平均値の指数を取ると、算術目盛上の幾何平均すなわち $10^3=1,000$ cfu/gを与える。

しかし、算術平均および標準偏差を算術目盛上で見出すための変換は、より複雑である。この場合、算術平均濃度は5,455cfu/gを超え、算術平均濃度が1,000cfu/g(上記の \log_{10} 平均値の指数化を用いる)によって適切に表されるとすると、算術平均は5倍を上回る過小評価となる！

ガイドスプレッドシートは平均値およびSD計算タブに計算表を含み、数学的詳細は付録“A1.1平均値および標準偏差を \log_{10} 目盛から算術目盛へ変換”を参照。

計算表の使用方法を示す動画は下記参照。

<http://youtu.be/iQWCnykNKWQ>.

覚えるべき重点は、微生物濃度はデータ解析またはその他のグラフ描画といった利便性のために通常 \log_{10} 変換されることである。しかし、 \log_{10} 変換された数を解釈するには、それらの任意の統計学および数学的操作を含め、特にリスクを評価するために算術目盛へ変換して戻す場合、例 4に示す通り、注意を払う必要がある。

1.2.4 食品中の微生物の統計分布を特徴付ける重要な側面は何か

食品の微生物汚染を記述およびモデル化するために利用できる多数の統計分布が存在する。図 2に示すパターンに関して様々な分布の適用可能性が Bassett et al. (2010)によって、現実の食品システムをモデル化することについて考察され、これはまた、進行中の研究の領域でもある(Busschaert et al. 2010; Commeau et al. 2012; Gonzales- Barron et al. 2010; Gonzales-Barron & Butler 2011; Jongenburger 2012; Jongenburger et al. 2012a; Jongenburger et al. 2012b)。

しかし、これらのすべての分布は、下記の重要な特性(または少なくともその一部)の推定を必要とする。

- 汚染率:ロット中の汚染された食品単位の百分率。このパラメーターの重要性は目的の生物に依存する、すなわち非常に低濃度で存在しうる病原体と、および存在-非存在に基づく微生物学的検査と共に通常用いられる。汚染率は分析単位検出確率によって推定される。
- 平均値(μ):長期にわたって期待されうる‘典型的な’(\log_{10})菌数。平均値は、モデル化される分布に応じて、汚染された単位だけから、またはすべての単位から計算されうる。
- 標準偏差(SD):サンプル間の(\log_{10})菌数の変動/同一の食品の分析単位。標準偏差もまた、モデル化される分布に応じて、汚染された単位だけから、またはすべての単位から計算されうる。

- 形状:菌数の分布の形状(例えば図 3)はそれをモデル化するのに使用する数学的分布に影響を与える。ヒストグラムは、形状を視覚化するのに有用である。

任意の特定状況下でどのような分布が最も適切かについてはしばしば単純な答えは無い。実際、この疑問に答えることのできる唯一の方法は、データ収集および解析による。それは、上記で特定されたパラメーターをデータによって推定することができるためであり、このことによって、MC の作成時およびサンプリングプランの選択時に、現実的な仮定を行うことが可能になる。この主題についての追加情報は、“1.2.5食品製品中の微生物レベルのより良い説明はどうしたら得られるか”に示される。

1.2.4.1 食品中の微生物の分布を決定するためのデータが全く無いなら

時には、上述のすべてのパラメーターの適用可能性および妥当性を評価するのに必要なデータの利益無しに、サンプリングプランを作成する必要がある。そのような状況では注意が必要である一方、下記の方法が役立つ。

1. 同様の微生物学的検査方法を用いる同様の食品製品/生産に関する既存の文献があるか。もしあれば、平均値、SD、分析単位検出確率およびこれらのソースからの形状推定が、理に適った開始点を与える可能性があるかどうかを判断する。
2. 発表された情報が存在しない場合、異なる食品単位間の菌数の分布は \log_{10} -正規分布(図 3参照) によって記述できると仮定する。
3. 発表された情報が存在しない場合、ロット内の食品単位間の \log_{10} 菌数(SD)の変動について値を選択する。経験および研究は、異なる食品製品についての菌数の変動には理に適った開始値が存在することを示し、および International Commission on Microbiological Specification of Foods (ICMSF) はこれに関係して若干のガイダンスを提供した。例えば、van Schothorst et al. (2009)は、
 - 0.2 \log_{10} cfu/g、よく混合された食品、例えば液体について
 - 0.4 \log_{10} cfu/g、適度に混合された食品、例えば挽肉について
 - 0.8 \log_{10} cfu/g、あまりよく混合されていない食品について

の標準偏差を用いるシナリオを考察している。

凝集が起こる場合はより大きい標準偏差が適切でありうる一方、標準偏差 $0.8\log_{10}\text{cfu/g}$ が一般的には合理的な開始値である。

従って、食品中の微生物濃度に、すなわちより良好に管理された工程に、変動がほとんど無いならば、任意の所与のサンプリングプランはより識別力が高く(“2.8.4サンプリングプランの識別および厳密性とは何を意味するか”参照)、すなわち、第2部で様々なサンプリングプランに関連して示す通り、許容の確率が 100%から 0%へ急速に低下する。

サンプリングプランの適用を一旦開始すると、生成されるデータを、例えばスプレッドシートまたはデータベースに捕捉することが重要である。これらのデータは、食品中の汚染レベルおよび食品中の汚染のパターンのより良好な推定を得るため、定期的に評価すべきである。そのようにしてサンプリングプランを経時的に改良することが可能である。

覚えるべき重点は、何もしないよりは、検出確率、平均、標準偏差または形状の、知識のある理に適った推測から開始するのが良く、また、より良いデータが一旦利用可能になれば最初の仮定を改良するのが良い。

1.2.4.2 どの統計分布を用いて微生物汚染を記載するかは重要か

食品ロット中の微生物汚染を記載するために分布を用いる理由は、無作為に選択されたサンプル単位(同一ロットから)に期待される汚染レベルのパターン(高、低、検出、不検出、など)を記載するからである。パターンを知ることによって、特定のサンプリングプランが用いられる場合に、そのようなロットが不合格となる確率を計算できる(後掲の“2.8.3動作特性(OC)曲線とは何か”を参照)。

従って、適切な統計分布、または統計分布の組み合わせを用いて³、ある特定の微生物濃度を有するロットはどのくらいの頻度で合格および不合格となると期待できるかを計算することは重要である。上記の通り、一般的な初期設定は、より良いかまたは別の情報が入手できない場合は \log_{10} -正規分布を仮定することである。しかし、他の分布、およびその組み合わせが可能であり(例えば Bassett et al., 2010; Habraken, Mossel & van der Reek, 1986; Jongenburger et al., 2012a)、これらは OC 曲線の形状に影響する。

しかし、統計学的原則は、どの統計分布を用いるかにかかわらず不変である。従って、我々はこれらの原則をここでは、単純化する仮定を行うことによって説明し、簡単な確率計算がガイドスプレッドシートを用いて可能になる。しかし、異なる統計分布を、より高度なツール、例えば FAO/WHO ウェブベースツール(<http://www.fstools.org/sampling>)または ICMSF(<http://www.icmsf.org/>) によるツールによって評価できる。

1.2.5 食品製品中の微生物レベルのより良い説明はどうしたら得られるか

あなたの食品製品中の微生物レベルの良い説明を得る唯一の方法は、食品からサンプルを採取し、それを標的微生物について検査し、データを採取および分析することである。関連データ無しには、知識のある決断をすることは全く期待できない。

定期モニタリングからの履歴データは良い開始点になりうる。代わりに、製造工程の 1 つ以上の段階(原材料、製造の様々な段階、最終製品)から、どのような情報を得たいか、および MC をどこに適用するかに応じて、新しいデータを収集する必要がある。しかし、濃度データは最も価値が高く、および従って条件に最も適した生物を列挙する必要があることに注意する。これらのデータによって平均、標準偏差、汚染率の推定、および菌数分布の形状の決定が可能になり、それによって \log_{10} -正規分布が状況に適しているかどうかの評価も可能になる。

³ 理論的または経験的根拠に基づく。

サンプル単位の小さな組を、例えば1日2回数週間にわたって収集することは、はじめの一步の情報をもたらす。新しい食品製品または製造ラインのためのサンプリングプランの開発に際して、“工程管理試験”がしばしば実施され、工程が“管理されている”場合の性能の初期ベースライン推定が設定される。しかし、これを一回だけ行って、それ以上は何もしないというわけにはいかない。例えば納入業者、異なるシフトのスタッフ、季節性など微生物汚染レベルに対して他の要素が及ぼしうる様々な作用および変動について考え、評価すべきである。重要な点は、取りかかること、およびより良い情報が入手可能になればサンプリングプログラムを改良することである。

覚えるべき重点は、知識のある決断をするためにはデータが必要だということである。必要に応じて履歴データを利用する。しかし、それらのデータがどのように収集されたか、およびその解釈のための限界は何かを覚えておく必要がある。

1.2.6 ランダムサンプリングとは何か、そして代替法は何か

我々はしばしば、食品のロットの微生物品質または安全について、または基礎となる生産工程の管理について、結論を下すことに興味を持つ。しかし、ロット中の、または生産工程からの、個々の食品単位を検査するのは非実用的である。なぜなら、売るのが残らないからである。

ゆえに、我々は、サンプル、すなわちある所定の方法で得られた一組の単位に基づいて、ロットまたは工程に関する決断を行わなければならない。サンプルを構成する食品の単位は、重量/体積/面積それぞれのサンプル単位と呼ばれる。重量/体積/面積をサンプルサイズと呼ぶ人もいるが、これはサンプル単位量と呼ぶほうが良い。なぜなら、サンプルサイズという語はサンプル中のサンプル単位の数(n)を呼ぶのにより普通に用いるためである。個々のサンプル単位の一部を、ここでは分析単位量(w)と呼び、その後、微生物学的検査において分析単位として使用する。サンプリングおよび微生物学的検査工程を図4に図示する。ここでサイズ $n=5$ のサンプルがロットから選択される、すなわち、サンプルは5サンプル単位から成る。各サンプル単位は1単位の食品製品、例えば100gパックから成り、従ってサンプル単位量は100gである。分析単位量 w に等しい重量25gの分析単位を、次いで各サンプル単位から二次サンプリングする(もしかするとサンプル単位を均質化後に)。分析単位を次いで、定量的(計数)または定性的(存在/非存在)検査のどちらかを用いて、標的微生物について検査する。100gサンプル単位を、25g分析単位が二次サンプリングされる前にまず混合するならば、これは計数結果または検出の確率に影響を及ぼす。しかし、そのような状況には追加の確率計算(分析単位の均質化および二次サンプリングを説明するため)が必要であり、本文書の範囲を超える。我々は読者に、実行可能である限り、サンプル単位と分析単位を同一にしておくことを勧める。

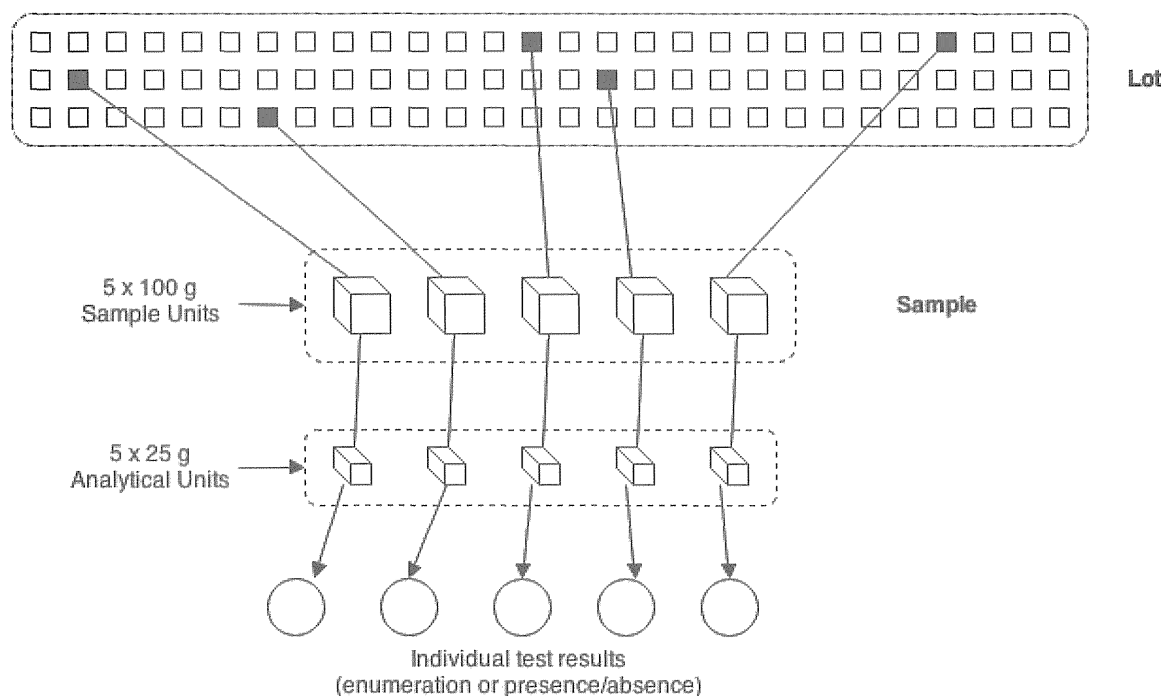


図 4: 食品単位のロットの図解。n=5 サンプル単位のサンプルを選択する。各サンプル単位は 100g(サンプル単位量)から成り、そこから重量 25g(分析単位量)の分析単位を計数または存在/非存在を検査のために二次サンプリングする。

サンプル単位 100 g×5

分析単位 25 g×5

個別試験結果 (計数または存在/非存在)

ロット

サンプル

サンプルを選択するための最も一般的な方法はランダムサンプリングであり、ここで可能な各サンプルは選択される同一の確率を有する。これは、ランダムサンプリングは任意の統計学的データ解析を支持するという仮定による。実際面では、サンプリングする母集団が大きい場合、各サンプリング単位は選択される同一の機会があるというのと同様である。サンプル単位の選択において意識的または無意識的バイアスが関わらないことを保証するには、例 5 で説明するとおり、乱数表または乱数発生器を用いて無作為選択を行うべきである。

例 5:ランダムサンプリング

ランダムサンプリングを真に使用するためには、必要なサンプル単位を選択するのに使用できる、一組の適切な乱数を生成する乱数発生器を使用する必要がある。ここでは我々は、広く利用可能な選択肢であるウェブサイト www.random.org を使用するが、乱数表は大学の統計学教科書の大部分に見られ、または Microsoft Excel または LibreOffice のような表計算ソフトウェアもまた利用できる。

不連続な食品単位のサンプリング:1000 食品単位からランダムなサンプル 20 単位を選択したいとする。これをどのようにしたらよいかを下記の段階で説明する。

- 食品単位に順に 1 から 1000 まで番号を振る。
- 1 から 1000 の間に 20 個の乱数を発生するために、
<http://www.random.org/integer-sets/> に行き、ここで非反復性の乱数を生成できる。
- 下記の詳細をフォームに入力する:
 - 各 20 個の一意のランダムな整数を含む 1 組を生成する。
 - 各整数は 1 ないし 1000 の値を有する。
 - 残りの選択肢はそのままにする。

我々は、下記の出力を生成した。

1 組: 9、25、49、72、119、156、172、257、325、338、496、595、603、607、639、798、846、862、914、966。

従って、食品単位 9、25、49、などをサンプリングする。ランダムサンプルを生成する方法を示す動画は下記参照。

<http://youtu.be/AVnQdTqBqDA>。

バルク製品のまたは生産ラインからのサンプリング:サンプリングしたい製品がバルク形態であるならば、最も良い方法は、製品が保管される前またはバルク保管から取り出される際にサンプリングすることである。これはその時、製造ラインからのサンプリングと同様である。

この場合、サンプリングすべき不連続な単位は無いので、代わりに不連続な時間間隔をランダムに選択する(所定の開始時間後)。これらの間隔は、例えば 1 秒、1 分、5 分など、好きなだけ大きくできる。その後、時間間隔に順に番号を振り、および利用する不連続な食品単位についてランダムサンプルを選択するために上記に説明したのと同じ工程を使用する。

ランダムサンプリングに代わる方法の一つは、**系統サンプリング**である。この方法では、サンプル単位はロット全体を通じて固定された等しい間隔で採取され、ここで当該間隔は時間または単位の数によって定義される。この種類のサンプリングは通常は、ロット全体が範囲であることを確保するために、加工または生産の間に適用され、例 6 で説明される。

例6:系統サンプリング

1000単位を含むロットからサンプル20単位を系統的に選択するとする。食品単位の順序を特定可能ならば、これは生産運転中に、単位が次々にラインから出てくる際に、例えば包装前または包装後に起こりうる。

ロット全体を範囲に入れるためにはサンプル単位を $1000/20=50$ 単位(間隔サイズ)毎に取る必要がある。最初のサンプル単位は最初の間隔すなわち最初の50単位からランダムに選択する。その後は50番目毎の単位をサンプリングする。

そこで、1から50(最初の間隔)の間でランダムに生成された数が例えば26であるならば、サンプリングされる最初の食品単位は単位26である。2個目のサンプル単位は $26+50=76$ 番目の単位、3個目は $76+50=126$ 番目の単位、などである。

系統的サンプルを生成する方法を示す動画は下記参照。

<http://youtu.be/6VudQ3g9oyw>.

しかし、系統的方法には潜在的な欠点がある。基礎となる周期的な現象が工程中にあるならば、これは、工程とサンプリング間隔の周期性が関連している(または互いの倍数である)場合、工程について歪んだ見方を与える。例えば、例6に記載された工程に10連ヘッド式回転充填機があったらどうなるか。生産ラインから50番目毎の単位を取るならば、これらは常に同一の充填ヘッドから来ることになる。ゆえに、工程の代表であるサンプルは得られず、その特定の充填ヘッドの代表であるだけである。

ランダムサンプリングに代わるもう一つの方法は、層化ランダムサンプリングである。これは、例えば原材料、複数充填ライン/ヘッド、シフト、時間間隔など、工程中のばらつきの潜在的な追加の原因を考慮に入れる。これらのばらつきの原因は、通常は層と呼ばれ、層化サンプリングの目的は、様々な層を考慮に入れて、ロットまたは生産工程全体を通じた代表サンプルを得ることである。

層はサイズが等しくなくて良いことに注意する。その場合、サンプル単位は層のサイズに比例して配分される。例えば、例7の生産工程を考える。牛乳の供給元2つが交互に使用され、および供給元1は粉乳の75%、供給元2は残りの25%を結果として生じたとする。各供給元をサンプル中で比例的に代表するために、75%サンプル単位の75%を供給元1の範囲である期間から、およびサンプル単位の残りの25%を供給元2の範囲である期間から採取する。

例7: 層化ランダムサンプリング

粉乳の工程を考える。ここでは1ロットが8時間のシフトにわたって生産される。ランダムなサンプルを選択するならば、最初の2~3時間にすべてのサンプル単位を回収しなければならぬことになる。しかし、8時間シフト全体を範囲に含むことを確実にしたい。そこで、生産を8つの1時間間隔(つまり層)に分割できる。 $n=24$ サンプル単位のサンプルを選択すると仮定すると、 $24/8=3$ 単位を各層から選択する必要がある。各層内で、3個のサンプル単位をその後ランダムに選択できる。これは各層について1から60(1時間の中のすべての分を表す)の間の3個の異なる乱数を生成することによって行える。代わりに、シフトを各20分の24層に分割し、ランダムにまたは系統的に、1個のサンプル単位を各層から選択することができる。

層化ランダムサンプルを生成する方法を示す動画は下記参照。

<http://youtu.be/EE8-rwLGyl0>.

3種類のサンプリングプランの違いを図5に、例7で用いた粉乳生産の背景を用いて示す。ランダムサンプリングについては、一部の1時間の期間は3サンプル単位より多くを必要とする一方、最後の間隔はサンプル単位採取が割り当てられていない。系統サンプリングについては、最初の20分間にランダムな開始時間が選択され、次いでサンプル単位がその後20分毎(3回/時間)に採取される。層化ランダムサンプリングについては、各1時間層内で必要な3個のサンプル単位はランダムに選択される。

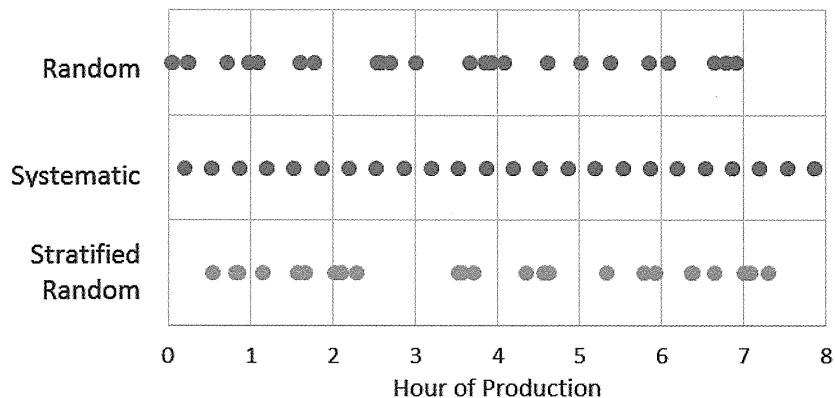


図5:粉乳の8時間(480分間)生産工程についてのランダム、系統のおよび層化ランダムサンプリングの説明。各サンプリング計画について、点は24サンプル単位のうちの1個を採取する時間を示す。この例はJongenburger(2012)から改変した。

ランダム
系統的
層化ランダム
生産時間

覚えるべき重点は、3つすべてのサンプリング方法(ランダム、系統のおよび層化ランダム)の全部がランダムな要素を持ち、その要素が後で行われるどんなデータ解析も支持するということである。加えて、3つすべてが長所と短所を持ち、これらは入手可能な追加情報があればそれと併せて注意深く評価する必要がある。

1.3 サンプルングプランの主な種類は何か

しばしば特定のプランが適用される特定の状況を考慮するための、長い間にわたって開発されている多数の異なるサンプルングプランが存在する。食品関連で用いられる最も一般的な種類のサンプルングプランは、二階級区分プラン、三階級区分プランおよび変数プランである。これらのサンプルングプランの起源は自動車部品やコンピューター部品のような部品および装置の製造にある一方、それらはまた食品製品の微生物的側面を評価する際にも利用できる。

上で示す通り、これらすべてのサンプルングプランの目的は、ロットまたは生産工程の許容可能性について判断することである。これらのプランおよびその特性についての簡単な説明を下記に示し、統計的側面に関するより詳細な情報を第2部に示す(“2.8 サンプルングプランの重要な種類は何か”参照)。必要な情報の量および適用の複雑さのレベルの順にプランを示す。

1.3.1 区分プラン

区分プランは、各サンプルング単位を、目的の属性または特性の種類に従って分類できる場合に用いられる。最も単純な場合では、許容できる/許容できない(例えば衛生指標のレベルを扱う場合)またはある/無い(例えば病原体を扱う場合)のような2分類だけがあり、これは二階級区分プランを生じる。許容できる/かろうじて許容される/許容できない、のような3つの分類が存在するならば、三階級区分プランとなる。

1.3.1.1 サンプルング単位当たり少なくとも1個の生物の存在を検出する検査のための区分プラン(二階級存在-非存在サンプルングプラン)

存在-非存在検査は、汚染のレベルの定量化を試みることなく、目的の生物を検出することに基づく。これは病原体について検査する際によく利用され、通常は方法の感度を改善するためのサンプルの濃縮を含む。

生物が検出される場合、分析単位(ゆえにサンプル単位)はしばしば‘陽性’と記載され、存在しない場合は、‘陰性’と表示される。しかし、‘陰性’検査結果は“目的の生物は利用した方法では分析単位中に検出されなかった”ことを意味し、“(ロット中には)汚染は無い”ではないことを覚えておくのは重要である。

各分析単位は二種類の可能な結果(存在または非存在)によって分類されるため、二階級区分サンプルングプランが適切である。この種のサンプルングプランは下記によって定義される。

- 各分析単位(w)の分析単位量(質量、体積、面積)
- サンプルサイズ、すなわち採取すべきサンプル単位の数(n)
- 当該ロットがなお許容できると考えられる、標的生物を含んでよい分析単位の数(c)⁴

一部の病原体、例えばサルモネラ属菌については、当該ロットが許容できると見なされるためには、しばしば一つのサンプル単位でも目的生物を含むことは許されず、ゆえに $c=0$ である。 $c=0$ であるサンプルングプランはまた、ゼロ耐性サンプルングプランと一般に呼ばれ、それはしかしロット中にサルモネラ属菌が全く無いことを意味しない。実際、ゼロ許容数サンプルングプランという用語のほうが好まれ、それはまた、この不正確な推論を避けるため