

図 12:食品中の汚染の均一分布を仮定して、分析単位量(w)が、生物(分析単位検出確率)を様々な濃度で単一サンプルから検出する確率に及ぼす影響。

分析単位検出確率 微生物の濃度 (g 当たり)

分析単位量がどのように単一の分析単位中の標的生物を検出する確率に影響を及ぼすかが分かったので、2 個以上のサンプル単位を取る場合、すなわち、サンプリングプランを食品に適用する場合どうなるだろうか。ガイドスプレッドシートにはそれを行うツールが二階級存在-非存在(2)タブにあり、そこでは分析単位量を用いて、基礎となる濃度を分析単位検出確率と、および続いてサンプルサイズ(n)および許容数(c)をロットを許容する確率と関係づける。サンプルサイズおよび許容数を $n=15$ および $c=0$ で一定とすると、図 13 から、より大きい分析単位量では、ロットが許容される可能性が低くなること、すなわち汚染が検出される可能性が高くなることが分かる。

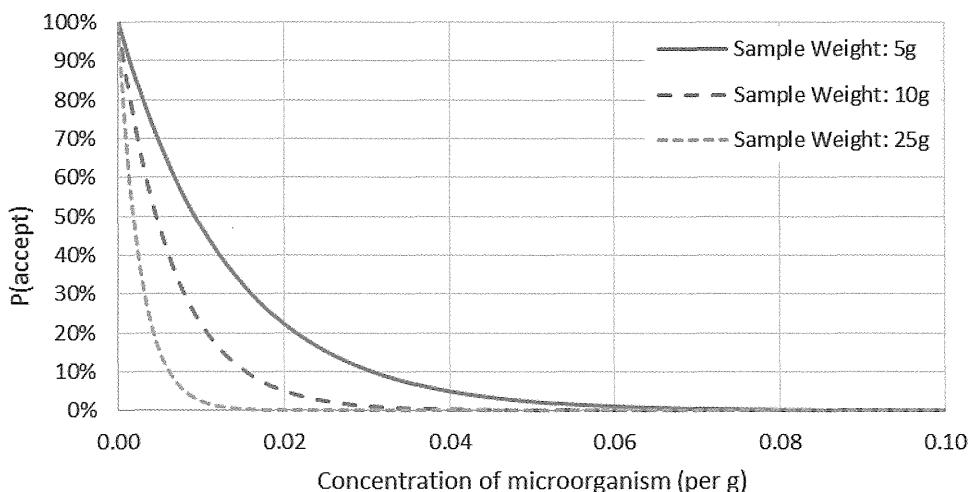


図 13: $n=15$ および $c=0$ のサンプリングプランを用い、および食品中の汚染の均一分布を仮定する場合、ロットが許容される確率 P(合格)に及ぼす分析単位量の影響。

P(合格) 微生物の濃度 (g 当たり) サンプル重量

しかし、分析単位の数に一定に保たれる一方、検査される材料の総量は三つのプラン間で異なることに読者は気づいているかもしれない。合計 75g、150g および 375g が、それぞれ分析単位量 5g、10g、および 25g を用いてサンプリングおよび検査される。前記に概説した通り、分析方法が適切に妥当性検証されているとすれば(75、150 および 375g について)、

15 個の個別の分析単位を検査してずっと高額になる代わりに、総量を単一グループ化したものを濃縮および検査することは完全に合理的である(ICMSF, 2011; Jarvis, 2007)。この手法の一例が、米国における牛くず肉のための“N-60 検査”であり、ここでは牛くず肉の 60 個の小さい表面薄片をグループ化して大腸菌 O157 について検査する(USDA FSIS, 2012)。

しかし、より少数の大きいサンプル単位またはより多数の小さいサンプル単位のどちらを採取するのがより良いかについて疑問が出てくる。例 14 から分かるのは、完全に均一な汚染レベルについて理論上は、サンプルがどのように提供されるかは、食品の総量が一定であり続ける限り、問題ではない。しかし、計算のために用いられる均一性の仮定は、一部の非常に良く混合された食品についてだけ妥当であり、ほとんどの食品では、より大きなばらつきが微生物学的汚染レベルで存在する。そのように、ポアソン \log_{10} 正規混合分布を用いて OC 曲線を計算することはより一般的になりつつある。この手法は ICMSF ツール (<http://www.icmsf.org/>) およびウェブベースのサンプリングツールのベーシックモード (<http://www.fstools.org/sampling>) で提供され、および他の分布の選択肢はアドバンスドモードで提供される。

例14: より少数の大きいサンプル単位かより多数の小さいサンプル単位か

食品375gについて検査するための妥当性検証された濃縮法があると仮定する。採取および検査するには、各25gのサンプル単位15個と各5gのサンプル単位75個のどちらが良いだろうか。

ガイドスプレッドシートの二階級存在-非存在(2)計算器を用いて、任意の所与の濃度について両方が同一のP(合格)を与えることが分かる。非常に良く混合された食品を扱うとすれば、食品検査する食品の総量が一定に留まるとするならば、より少数の大きいサンプル単位とより多数の小さいサンプル単位とのどちらを取るかでは違いは無い。

しかし、この結果は、ポアソン分布によるが、均一性の仮定に依存する。実地にはこの仮定は、例えば液体のように非常に良く混合された食品を扱うのでなければ当てはまらないかもしれない。その結果、より多数の小さいサンプル単位を検査するほうが、より少数の大きいサンプル単位としての等価の量の当該ロットよりも一般的には好ましい。なぜなら、この方法でサンプリングすることによって汚染の‘ポケット’を検出する見込みが増えるからである。

2.8.6.2 食品中の微生物濃度がどのように許容の確率に影響を及ぼすか

二階級存在-非存在プランは病原体を扱う際に通常利用されることを既に見てきた。生物を目的の変数、すなわちその全体のおよびおそらく低い濃度についての代理変数として検出する能力を利用する。全体の濃度は低いという仮定、およびサンプルを濃縮して 1 分析単位中の 1 個またはごく少数しかない生物を検出できるようにする必要性のために、存在-非存在に基づくサンプリングの使用が必要になる。

図 12 から、汚染のレベルが高いほど、単一の分析単位が標的生物を含む可能性が高くなることが分かる。従って、サンプリングプランの一部として複数のサンプル単位が採取される場合、結果として得られる OC 曲線は図 13 のものと同様に見え、そこで基礎となる濃度が上

昇するにつれロットを許容する確率は低下することが分かる(例 15)。すなわち、'高度に'汚染されたロットはめったに合格しない(しばしば不合格になる)が、ロットを許容することはロットに汚染が無いこととは同じでないのを忘れてはならない。

例15:ロット許容の確率に及ぼす濃度の作用

再び $n=15$ 、 $c=0$ および $w=10g$ のサンプリングプランを考える。ガイドスプレッドシート(二階級存在-非存在(2))から、濃度 $0.001cfu/g$ では、分析単位検出確率は1%、 $P(\text{合格})=86.07\%$ であることが分かる。濃度が10倍($1\log_{10}cfu/g$)に $0.01cfu/g$ へ増加すると、検出確率は 9.52% へ増加し、許容の確率は 22.31% へ減少する。

2.8.6.3 サンプル単位の数がどのように許容の確率に影響を及ぼすか

サンプルサイズ(n)は、ロットの許容可能性についての判断を行うために何個のサンプル単位がロットから採取されるかを示す。 $c=0$ のサンプリングプランについて図 14に示す通り、所与の検出確率について、サンプルサイズ(n)が増大するにつれて許容の確率は減少する。この図からまた分かることは、例えば $n=10$ のような小さい n については許容の確率は非常にゆっくり低下することである。対照的に、大きいサンプルサイズ $n=60$ については、許容の確率は非常に速やかに低下する。従って、大きいサンプルサイズのサンプリングプランはより識別力がある、すなわち、例 16に示す通り、許容の確率は 100%から 0%へ速やかに低下する。

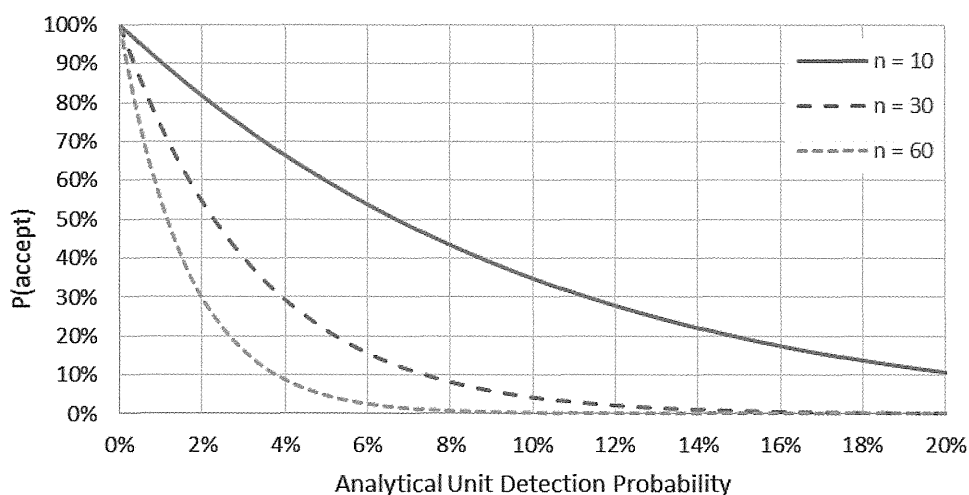


図 14:ゼロ許容数サンプリングプラン($c=0$)を用いる場合、ロットが許容される確率 $P(\text{合格})$ に及ぼすサンプルサイズ(n)の影響。
 $P(\text{合格})$ 分析単位検出確率

例16:識別力のあるサンプリングプラン

図14から $n=60$ および $c=0$ のサンプリングプランを考える。検出確率 0.4% では $P(\text{合格})=78.62\%$ であり、検出確率 2% については 29.76% へ低下する。対照的に、 $P(\text{合格})$ の差は $n=10$ のサンプリングプランについてはずっと小さく、 96.07% に対し 81.71% である。このため、 $n=60$ のサンプリングプランのほうがより識別力がある。

また、前出のコメントを繰り返すと、通常は、より多数の小さいサンプル単位を採取するほうが、より少数の大きいサンプル単位に依存するよりも好ましく、それは、特に食品製品中の微生物汚染は一般的に真に均一ではないため、より多数の小さいサンプル単位は汚染スポットに'当たる'見込みを増すからである。

2.8.6.4 許容数がどのように許容の確率に影響を及ぼすか

許容数(c)は、当該ロットをなお許容しながら、サンプル中の標的生物を含んでよい分析単位は何個かを決定する。病原性の高い生物については、標的生物が分析単位にも検出されない場合だけロットが許容できるように、許容数 $c=0$ であることが普通である。そのようなゼロ許容数サンプリングプランについては、許容の確率は 100% から急速に低下するのが典型的である(図 15)。図 15 から観察できることは、 c が増大するにつれ、許容の確率は低下する前により長く 100% に近いままであり、従って OC 曲線は右にシフトする。例えば、 $c=2$ の場合、ロットはより高い分析単位検出確率で許容される可能性がより高い。なぜなら、標的生物が検出される 0、1、または 2 個の分析単位をサンプルが含む場合にロットが許容されるからである。

許容数 c はまた、サンプリングプランの厳密性に関係する(“2.8.4 サンプリングプランの識別および厳密性とはどういう意味か”)。 c の値が小さいほど、サンプリングプランはより厳密になる。

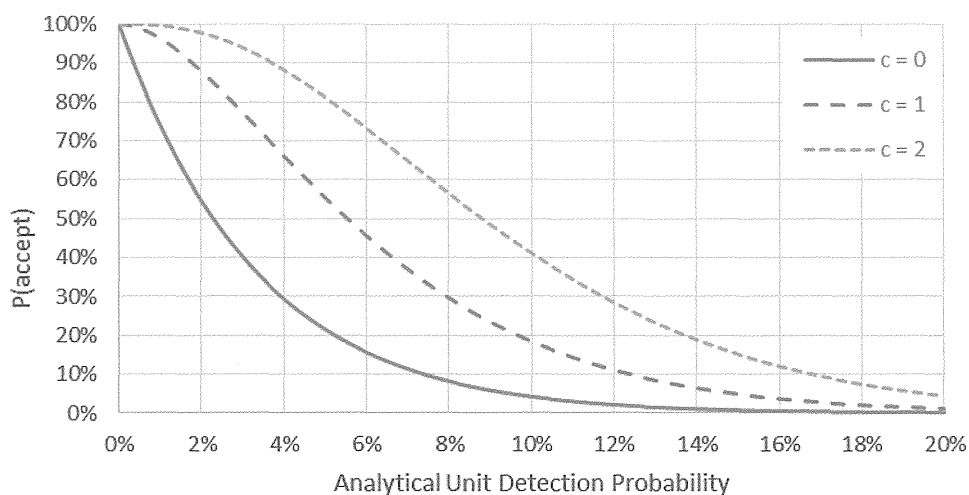


図 15: サンプルサイズが $n=30$ である場合、ロットが許容される確率 $P(\text{合格})$ に及ぼす許容数(c)の影響。
 $P(\text{合格})$ 分析単位検出確率

2.8.6.5 まとめ-二階級存在-非存在サンプリングプラン

二階級存在-非存在サンプリングプランは、病原性の高い微生物を扱う場合に、最も一般的に用いられるサンプリングプランである。従って我々は、疾病を引き起こしうる(非常に)低レベルの微生物汚染に関心がある。しかし、我々はまた、ロットに微生物学的汚染が無いことをサンプリングを通じて保証することは決してできないことも見てきた。従って、MC をそのような状況で食品製品に用いる場合は、標的生物が分析単位のどれかに検出される場合にはロットを合格させないのが普通であり、すなわち、ゼロ許容数サンプリングプラン($c=0$)が用いられる。

より大きい分析単位量は分析単位中の標的生物を捕捉する見込みを高める一方、一般的には、より小さいサンプル単位を採取する(およびゆえにより小さい分析単位量を用いる)ことが、より少数だがより大きいサンプル単位を採取する(およびより大きい分析単位量を用いる)よりも好ましい。なぜなら、この手法はロットのより良好な被覆度を与え、および食品ロットが均一でない(すなわち良く混合されていない)場合に守ってくれるからである。少なくともいくらかのレベルの不均一性の仮定は、現在は均一性の仮定よりも一般的である。

分析単位量が設定されれば(通常は規格化された微生物学的検査で規定される)、ガイドスプレッドシートの二階級存在-非存在(1)タブを用いて、消費者(および生産者)リスクポイントを満たすサンプリングプランを作成するための基本的な統計学的手法は下記の通りである。しかしこの手法は盲目的にでなく MC を作成すべき背景に沿って適用すべきであることに注意する。

1. 分析単位のどれかに標的生物を検出したら許容できるかどうか、または一部の分析単位が標的生物を含むことが許容できるかどうかを決定する。ゆえに c はゼロに等しいかまたはゼロより大の値を取る。
2. この分析単位検出確率(以上)を有するロットはほとんどの場合不合格となるべき、ロットにおける「許容できない検出確率」(p_1)を決定する。
3. そのようなロット(検出確率 p_1 以上の)がどのくらいの頻度で許容されうるか、すなわち検出確率が p_1 である場合に許容できる P(合格)の最大値を p_1 (合格)としてその値は何かを決定する。⁹
4. c をゼロとする(開始点として)。
5. n について実際的な値を選択する。
6. n および c の値をガイドスプレッドシートに入力する。
 - a. 選んだ p_1 について P(合格)がステップ 3 で選択した p_1 (合格)より大であれば、 n の値を 1(以上)増やし、セル D12 に示される実際の P(合格)の値が p_1 (合格) 以下になるまでステップ6を繰り返す。¹⁰
 - b. 選んだ p_1 について P(合格)がステップ 3 で選択した p_1 (合格)未満であれば、 n の値を 1(以上)減らし、P(合格)の値がちょうど p_1 (合格) を上回るまでステップ6を繰り返す。ここで n の値を 1 増やして、P(合格)が p_1 (合格) 以下であることを確実にする。
7. c が 0 より大でよいならば、OC 曲線が許容できることをチェックする。特に、低い分析単位検出確率(p_0)で許容の確率 p_0 (合格)が許容できるかどうかおよび小さすぎないかどうかをチェックする。¹¹ 許容の確率が許容できるならば終了である。しかし P(合格)が小さすぎるすなわち p_0 (合格)未満であるならば、プランが要求事項を満たすまで、すなわち許容の確率が分析単位検出確率 p_1 で p_1 (合格)以下および検出確率 p_0 で p_0 (合格)以上となるまで、 c を 1 増やして工程をステップ5から、 c をさらに増やすことを含めて繰り返す必要がある。

⁹ p および p_1 (合格)の組み合わせは消費者リスクポイントと呼ばれる(“2.8.5消費者および生産者リスクポイントとは何か”を参照)。対応する値をセル B12 および C12 に入力できる。

¹⁰セル D12 に示される実際の P(合格)が赤フォントから緑へ変わる。

¹¹ p および p_0 (合格)の組み合わせは生産者リスクポイントともいう(“2.8.5消費者および生産者リスクポイントとは何か”を参照)。対応する値をセル B11 および C11 にそれぞれ入力できる。

サンプリングプランを決定するこの工程を示す動画は下記参照。

<http://youtu.be/YnncxY7imyw>.

使用する分析単位量に柔軟性があるならば、この段階的手法に従うことはそれでも可能であることに注意すべきである。この場合はしかし、異なる分析単位量の効果を、汚染が均一に分布しているという仮定の下に、ガイドスプレッドシートの二階級存在-非存在(2)タブを用いて評価できる。例えばポアソン-log 正規分布のような代わりの手法を、ウェブベースのツール(<http://www.fstools.org/sampling/>)または ICMSF ツール(<http://www.icmsf.org/>) を用いて調べることができる。

2.8.7 二階級濃度によるサンプリングプラン

二階級濃度に基づくプランは、二階級存在-非存在に基づくプランと非常によく似ている。なぜなら、両方の種類で、ロット受入れの確率を計算するのに二項分布を用いるからである。しかし、第1部で述べた通り、例えば腸内細菌科菌群のような衛生指標、例えば一部のそのまま摂食可能な食品におけるリステリア菌(CAC2007)のように病原性が高くなく従って食品中である程度許容されうる病原体を扱う場合、または加熱調理のような病原体の数を安全なレベルまで低下させる工程を製品が受ける場合には、濃度によるプランが一般的には用いられる。

存在-非存在に基づくプランとの重要な違いは、我々は今は具体的には食品中の微生物の単に存在でなくその濃度を測定すること、すなわち微生物が検出閾濃度を越えるかどうかに関心があることである。

二階級濃度に基づくサンプリングプランは下記によって定義される。

- 分析単位量(w)、すなわち各分析単位の量(質量、体積、面積)
- サンプルサイズ(n)、すなわち採取されるサンプル単位の数
- 分析単位が許容できるか許容できないかを決定する微生物学的基準値(m)
- 許容数(c)、すなわちロットがなお許容できると考えられる、 m を上回る濃度を含んでよい分析単位の数

加えて、二階級濃度に基づくサンプリングプランの性能を評価するためには、分析単位間の \log_{10} 濃度の標準偏差(SD)の推定が必要である。

一般的な仮定は、食品中の標的生物の \log_{10} 濃度は正規分布するということである(図 6 参照)。しかし、この仮定に反する証拠があるならば、例えばガンマ分布のような代わりの分布を使用できるが、これらはあまり一般には用いられず、本文書の範囲外である。しかし、ウェブベースのツール(<http://www.fstools.org/sampling>)は代わりの分布を調べるための柔軟性を提供する。

そこで、 \log_{10} 正規分布が当てはまると仮定して、任意の平均 \log_{10} 濃度について基準値 m を上回るサンプルの確率を計算でき、必要なのは \log_{10} 濃度における変動(標準偏差)の合理的な推定だけである(図 16)。結果として得られる確率は、当該ロットからのサンプル単位がどの

くらいの頻度で許容できないかの指標を与える(図17)。ロット受入れの確率は次いで二階級存在-非存在プランと類似の方法で計算されるが、分析単位検出確率の代わりに m を上回る確率を用いる。OC 曲線は次いで、X 軸上の平均 \log_{10} 濃度と(図 18)または X 軸上の算術平均濃度と(図 19) プロットできる。上記の通り(“2.8.3.1OC 曲線の X 軸には \log_{10} 幾何平均を、それとも算術平均を使うべきか”)、達成されている管理水準を強調するために、食品中の実際の濃度を用いて、後者の手法を用いることを勧める(例 4も参照)。数学的詳細は付録“A1.4 二階級濃度によるサンプリングプラン”に示され、P(合格)の計算および随伴するグラフはガイドスプレッドシートの二階級濃度タブにある。図 16～図 19を作成するために用いられた計算を例 17 に示す。

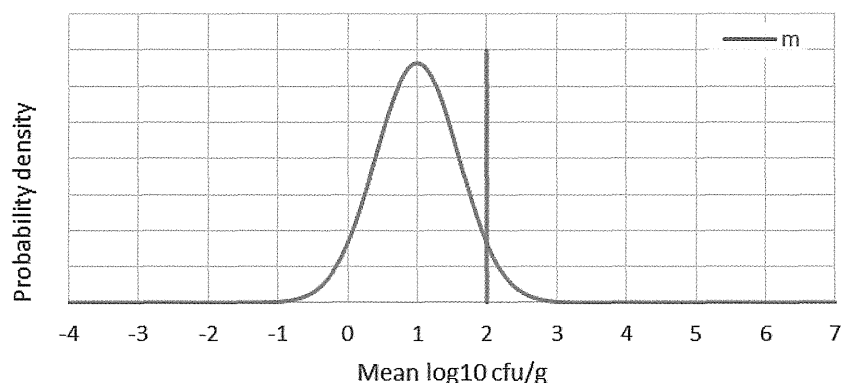


図 16:平均=1 \log_{10} cfu/g、SD=0.6 \log_{10} cfu/g および $m=2\log_{10}$ cfu/g の正規分布のプロット。 m の右側の曲線下面積が、食品の分析単位の濃度が m を上回る確率である(図 17参照)。

確率密度 平均 \log_{10} cfu/g

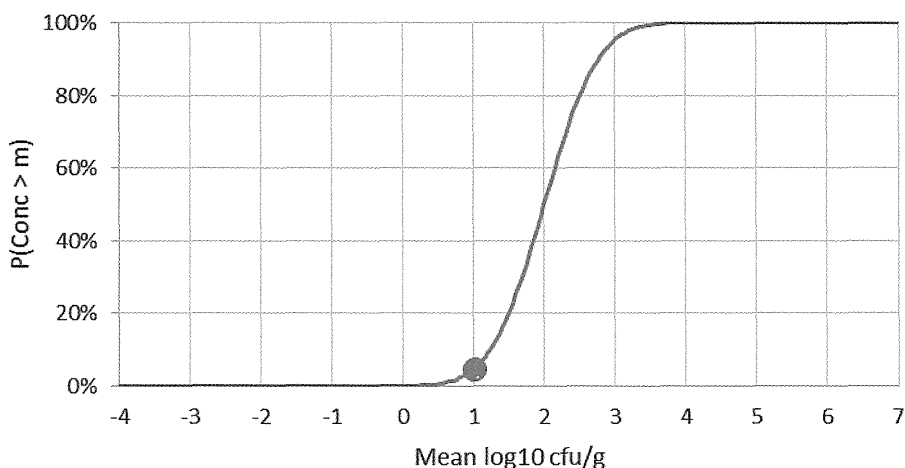


図 17:SD=0.6 \log_{10} cfu/g である場合に食品中の濃度が $m=2\log_{10}$ cfu/g を上回る確率のプロット。赤点はロット中の平均 \log_{10} 濃度(\log_{10} 幾何平均)が 1.0 \log_{10} cfu/g に等しい場合の確率を示す(例 17)。

P(濃度> m) 平均 \log_{10} cfu/g

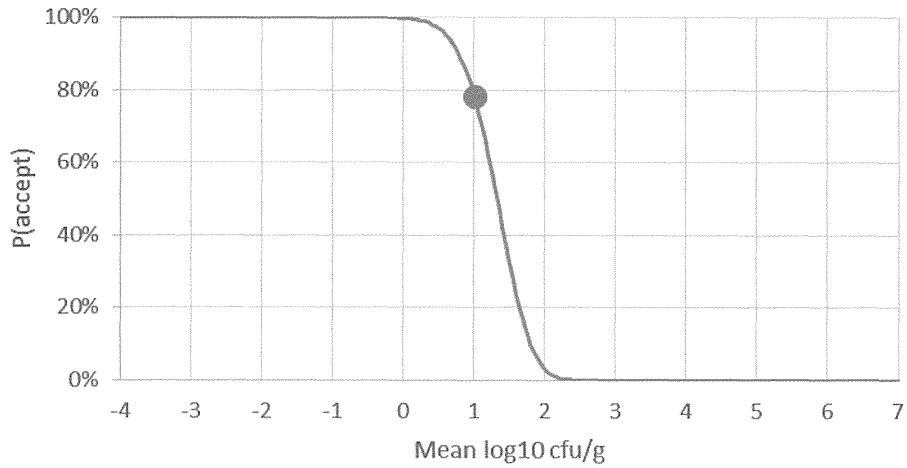


図 18: $n=5$, $c=0$, $m=2\log_{10}\text{cfu/g}$ および $SD=0.6\log_{10}\text{cfu/g}$ のサンプリングプランについて、X 軸に平均 \log_{10} 濃度(\log_{10} 幾何平均)を用いる、二階級濃度によるサンプリングプラン OC 曲線。赤点は、ロット中の平均 \log_{10} 濃度(\log_{10} 幾何平均)が $1.0\log_{10}\text{cfu/g}$ に等しい場合の $P(\text{合格})$ を示す(例 17)。
 $P(\text{合格})$ 平均 $\log_{10}\text{cfu/g}$

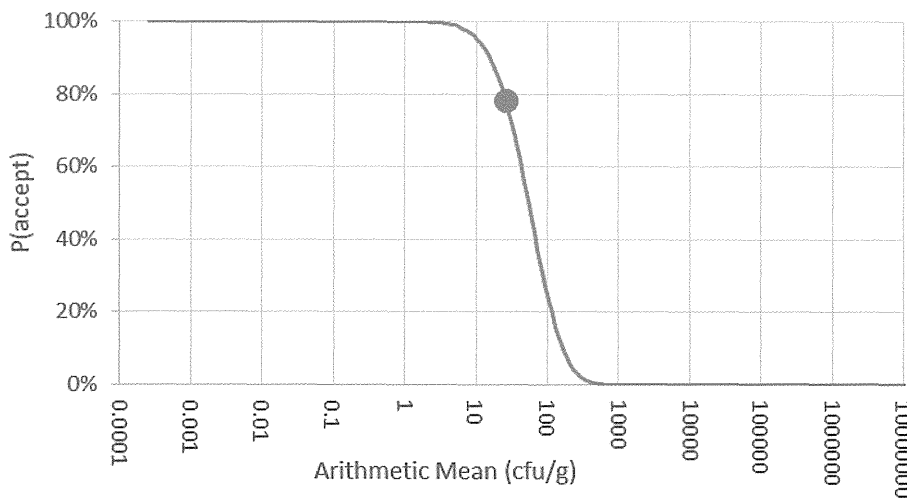


図 19: $n=5$, $c=0$, $m=2\log_{10}\text{cfu/g}$ および $SD=0.6\log_{10}\text{cfu/g}$ のサンプリングプランについて、X 軸に算術平均濃度を用いる、二階級濃度によるサンプリングプラン OC 曲線。赤点は、算術平均=26cfu/g(例 17、 $1.0\log_{10}\text{cfu/g}$ の場合の \log_{10} 幾何平均と等価) の場合の $P(\text{合格})$ を示す。
 $P(\text{合格})$ 算術平均(cfug)

例17:濃度-に基づく P(合格)

CAC(2007)に示される、リステリア菌のためのサンプリングプラン $n=5, c=0$ および $m=100\text{cfu/g}$ (\log_{10} 目盛で $m=2$)を考える。

リステリア菌が \log_{10} 目盛上に標準偏差 $0.6\log_{10}\text{cfu/g}$ で正規分布すると仮定すると、随伴するOC曲線を作成するのに、ガイドスプレッドシートの二階級濃度タブの計算を用いることができる。

スプレッドシートから、(\log_{10} 幾何)平均が $1.0\log_{10}\text{cfu/g}$ に等しい(算術平均は 26cfu/g に等しい)ならば、サンプル単位の4.78%が基準値 $m=2.0\log_{10}\text{cfu/g}$ を上回ると予想でき、ゆえに許容の確率は $P(\text{合格})=78.28\%$ に等しい。

また、平均 \log_{10} 濃度を $P(\text{合格})$ の値が目的の値、例えば5%を下回るまで変化させるツールも利用できる。これは平均 \log_{10} 濃度が1.93(小数点以下2桁まで)に等しい時に達成され、および $P(\text{合格})=4.87\%$ である。算術平均は 221cfu/g に等しい。

これらの計算を示す動画は<http://youtu.be/vpbXB3kqYNM>参照。

2.8.7.1 分析単位量(重量/体積/面積)がどのように許容の確率に影響を及ぼすか

二階級存在-非存在プランとは異なり、分析単位量はここではそれほど影響しない。しかし、どのくらい大きい分析単位量(w)が検査されるかに関わらず、長所と短所がある。

大きい分析単位量が用いられるならば、特に濃度が低い場合に、生物の計数に成功するのはより難しくなりうる。この作用は、食品製品中の濃度が低い場合に微生物を検出する確率が低い二階級存在-非存在プランで既に見ている。図1の例と同様に、目的生物を正確に1個含む100gの食品製品を想像する。1gの分析単位量を取るならば、生物を捕捉する見込みは100分の1(=1%)である。対照的に、10gの分析単位量を選択するならば、今度は生物を捕捉する見込みは10分の1(=10%)であり、一方で100g全体の検査では100%の見込みとなる。小さい分析単位量だけが用いられる場合は、より高濃度で同じことがもちろん起こりうる。しかし、大きい分析単位を検査すること(ゆえに大きいサンプル単位がロットから取られる)はまた、'平均化効果'を結果として生じ、すると汚染がサンプル単位にわたって一貫しているかそれとも高度に汚染された塊または集団のためなのか判断するのが困難になる。汚染のパターンについて知ることは、汚染の機構についての情報を与えおよび統計分布のより良い推定を可能にするかもしれない。

二階級存在-非存在プランについては、妥当性検証された分析単位量を用いること、すなわち規格化されたおよび妥当性検証された方法を用いることをユーザーに推奨する。しかし、サンプリングの理由(ロット受入れまたは工程管理)を覚えておき、その目的に適した分析単位量を選択することが重要である。加えて、計数方法はしばしば、計数値を結果として生じるから'正確'と考えられていることを指摘する価値がある。しかし、平板コロニー数または最確数(MPN)法からの推定値は、方法に依存する分析変動を受け、感受性および特異性の欠如もまた結果に影響しうる。従って、結果を適切に解釈できるように、分析検査の全体的な性能(感受性、特異性など)を理解することは重要である。この主題についてのより詳細な考察は

本文書の範囲外であり、代わりに興味のある読者には AOAC International (2006) およびまた Cowell and Morisetti (1969) の研究を紹介する。

2.8.7.2 濃度のレベルがどのように許容の確率に影響を及ぼすか

一般的に言って、図 18 から分かる通り、食品中の平均濃度が高いほど、ロットが許容される可能性は低い。しかし、 $P(\text{合格})$ は平均濃度だけでなく、許容できない基準値 (m) および標準偏差 (SD) にも依存する。平均、標準偏差および許容できない基準値の間の関係を図 20 に示す。ここでは 3 つすべての正規分布が、 m を上回る同一の確率を結果として生じる。

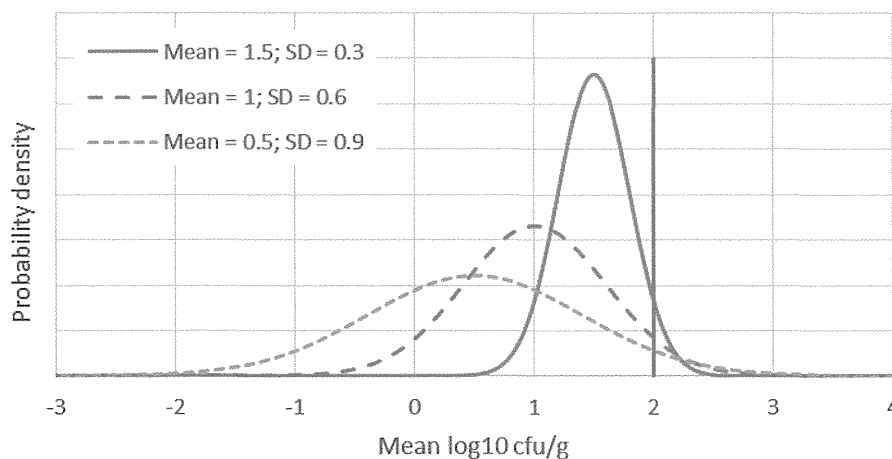


図 20: 平均値および標準偏差 (SD) が異なる 3 つの正規分布。3 つの分布すべてが基準値 $m=2\log_{10}\text{cfu/g}$ を上回り 4.78% に等しい確率を有する。

しかし、例えば達成されている管理水準およびゆえにリスクを評価するために、食品ロット中の生物の実際の数について推定したいならば、 \log_{10} 目盛でなく算術目盛でこれを行う必要があることを覚えておく (“1.2.3 なぜ \log_{10} を使うのか、およびなぜその解釈に注意が必要なのか”も参照)。

2.8.7.3 許容できない基準値 (m) がどのように許容の確率に影響を及ぼすか

前項で見た通り、 m の値は平均値および標準偏差と一体的に結びついている。OC 曲線 in 図 21 の OC 曲線を見るならば、 m の値を増加させる一方で SD および他のパラメーター (n , c) を一定に保つことは、OC 曲線を右側にシフトさせる効果があることが分かる。しかし、OC 曲線の形状は変わらないままである。

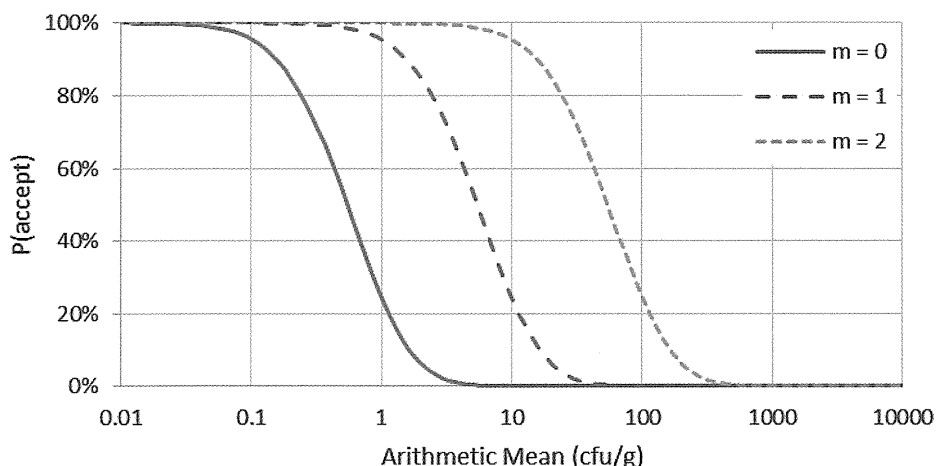


図 21:3 つの異なる許容できない基準値(m) について $n=5$, $c=0$, $SD=0.6\log_{10}\text{cfu/g}$ の二階級濃度によるサンプリングプラン OC 曲線。
 $P(\text{合格})$ 算術平均(cfu/g)

2.8.7.4 濃度の変動がどのように許容の確率に影響を及ぼすか

標準偏差、平均および許容できない基準値(m)が相互に結びついていることを既に見てきた。OC 曲線上で標準偏差を変化させ、一方で m を一定に保つことの効果を図 22 に示す。このプロットから分かることは、OC 曲線に及ぼす作用がより複雑なことであり、なぜなら標準偏差もまた算術平均の値に影響するからである(“1.2.3なぜ \log_{10} を使うのか、およびなぜその解釈に注意が必要なのか”)。しかし、標準偏差が大きい場合、OC 曲線ははるかに低い算術平均濃度で低下し始め(ここでは約 1cfu/g)、およびゼロに近い許容の確率に達するまでより長くかかる。これは、算術平均が小さい場合、小さいパーセンテージの分析単位は基準値 m よりも大きい濃度を有し、および標準偏差が小さい時より大きい時の方が、このパーセンテージはより大きいからである。従って、同一のサンプリングプラン (ここでは $n=5$, $c=0$ および $m=100\text{cfu/g}(2\log_{10}\text{cfu/g}$ と等価)) は、標準偏差が大きい時に比べて、標準偏差が小さい時に、互いに近い 2 つの算術平均濃度間をより良く識別できる。

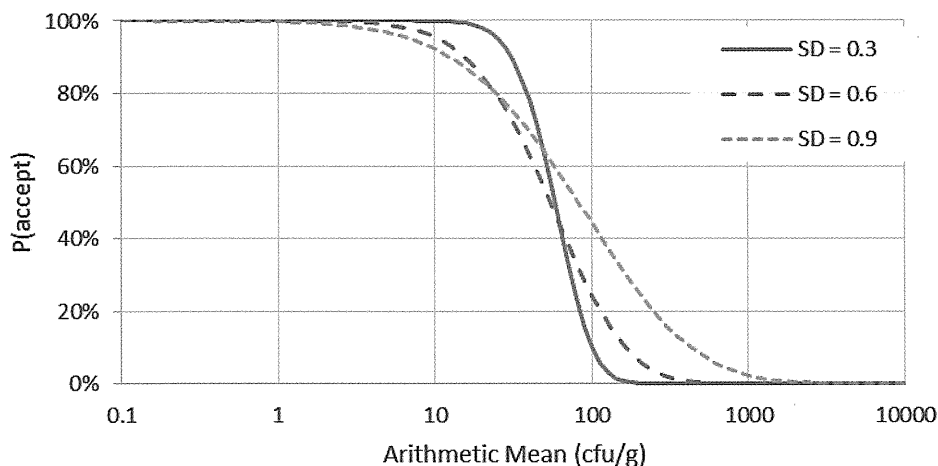


図 22:3 つの異なる標準偏差(SD) について、 $n=5$, $c=0$, $m=2\log_{10}\text{cfu/g}$ の二階級濃度によるサンプリングプラン OC 曲線。
 $P(\text{合格})$ 算術平均(cfu/g)

従って、食品中の微生物濃度にほとんど変動が無いならば、任意の所与のサンプリングプランはより識別力がある、すなわち 100%から 0%へ速やかに低下する。

2.8.7.5 サンプル単位の数がどのように許容の確率に影響を及ぼすか

サンプルサイズ(n)の効果は二階級存在-非存在プランについて記載されたのと同様であり、すなわち、より大きい n を有するサンプリングプランは、小さい n を有するものより識別力がある。これを図 23 に示す。ここでは、大きいサンプルサイズはより速やかに低下する OC 曲線を結果として生じることが分かる。

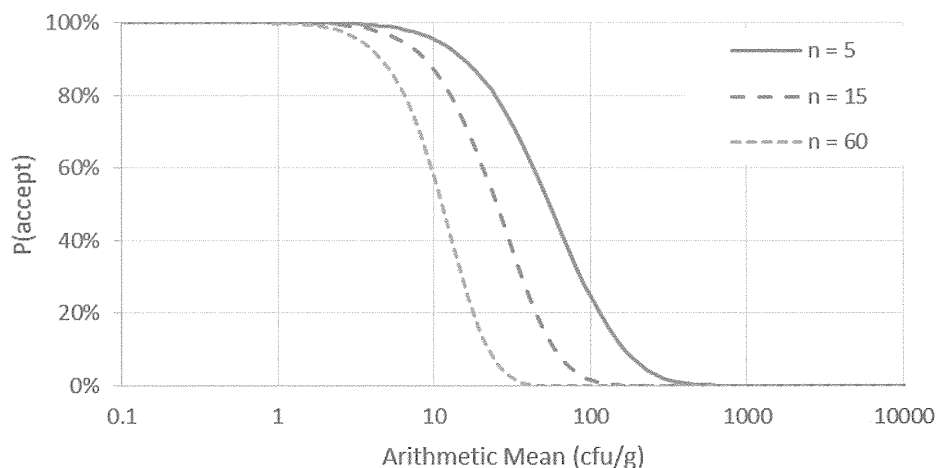


図 23:3 つの異なるサンプルサイズについて、 $c=0$ 、 $m=2\log_{10}\text{cfu/g}$ 、 $SD=0.6\log_{10}\text{cfu/g}$ の二階級濃度によるサンプリングプラン OC 曲線。
P(合格) 算術平均(cfu/g)

ここで、サンプリングプランがどのくらい識別力があるかに共に影響する 2 つのパラメーター (サンプルサイズ(n)および標準偏差(SD))があることに注意する。では、変動の大きい微生物濃度(大きい SD)の食品製品があるならば、サンプルサイズ(n)を増やすことによって OC 曲線の識別力をより大きくできる。その方法で、食品中のかなりの変動にかかわらず、必要な程度の識別を達成することが可能である。しかし、サンプルサイズ n を増やすことには明らかなコスト、すなわちサンプル採取および微生物学的検査のためのコストがかかることに注意する。対照的に、工程管理の改善を通じて変動を低下させることを試みるのにもコストがかかるが、しかしサンプルサイズを増やすという代案よりも長期的には好ましい。

2.8.7.6 '許容数'がどのように許容の確率に影響を及ぼすか

二階級濃度に基づくサンプリングプランで変えることのできる最後のパラメーターは許容数(c)である。それは二階級存在-非存在に基づくプランにおける許容数と同様の効果があり、すなわち c が増加するにつれて OC 曲線は右へ移動し、および形状もまたわずかに変化する (図 24)。

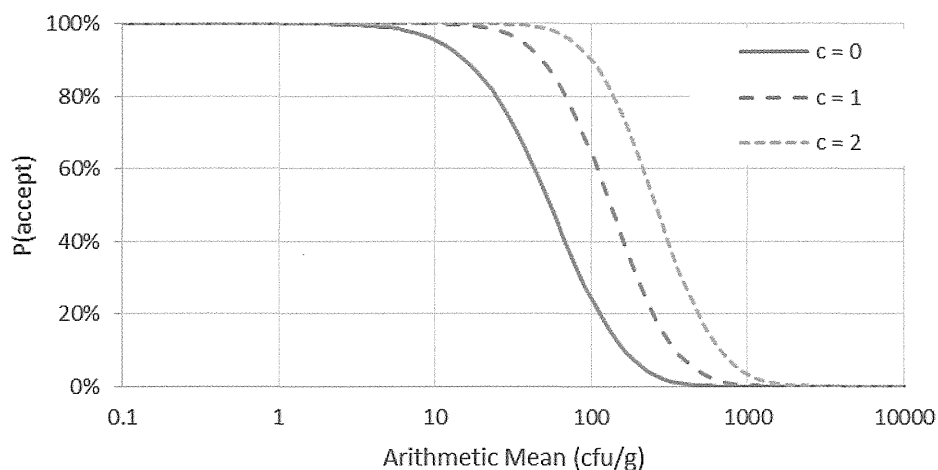


図 24:3 つの異なる許容数について、 $n=5$ 、 $m=2\log_{10}\text{cfu/g}$ 、 $SD=0.6\log_{10}\text{cfu/g}$ の二階級濃度によるサンプリングプラン OC 曲線。

P(合格) 算術平均(cfu/g)

前項で、微生物濃度の変動が異なる食品製品について同様の性能を有するサンプリングプランを作成することが可能であるという事実を説明している。この点を説明するために、3 つの異なる加工業者によって製造された、下記の異なる標準偏差を有する食品製品を考える。すなわち、

- 加工業者 1 は標準偏差 $0.3\log_{10}\text{cfu/g}$ で食品を生産する。
- 加工業者 2 は標準偏差 $0.6\log_{10}\text{cfu/g}$ で食品を生産する。
- 加工業者 3 は標準偏差 $0.9\log_{10}\text{cfu/g}$ で食品を生産する。

また、目的の MC は微生物学的基準値が $m=2\log_{10}\text{cfu/g}$ であるとも仮定する。いくらかの試行錯誤によって、図 25 に示す通り同様の性能のサンプリングプランを見出すことができる。これらの曲線は単に目安であり、曲線間のより近い一致はサンプルサイズ n および許容数 c の値を変化させることによって達成できる。この例は非常に極端である一方、任意の具体的な状況のために目的の性能を結果として生じるように、サンプリングプランを (n 、 c 、および m さえを通じて) 特定するためにはかなりの柔軟性があることを確かに説明する。しかし、目的の性能は、結局はそのようなサンプリングプランが負うコストとバランスを取る必要がある。

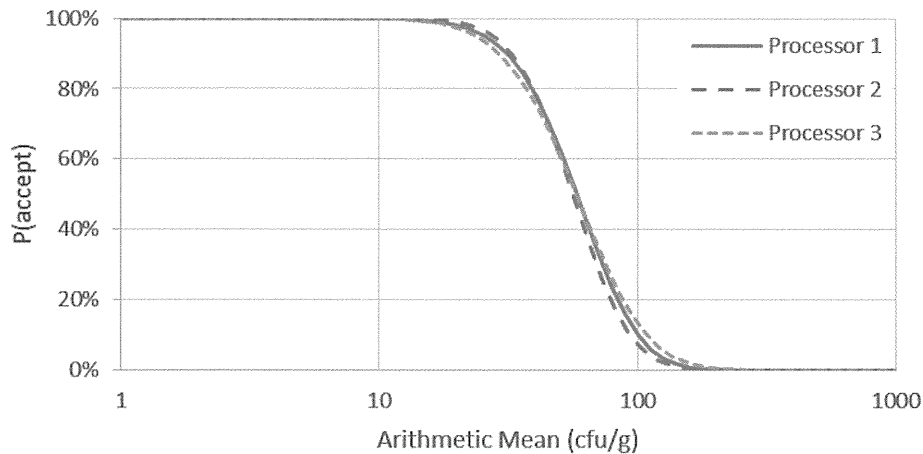


図 25:SD=0.3、0.6 および $0.9\log_{10}\text{cfu/g}$ の 3 つの製品について微生物学的基準値 $m=2\log_{10}\text{cfu/g}$ の二階級濃度によるサンプリングプラン OC 曲線。同様の性能を達成するサンプリングプランは $n=5$ および $c=0$ (加工業者 1); $n=27$ および $c=3$ (加工業者 2);および $n=48$ および $c=4$ (加工業者 3) を必要とする。
P(合格) 算術平均(cfu/g)

2.8.7.7 まとめ-二階級濃度によるサンプリングプラン

二階級濃度によるプランは、低レベルの汚染が許容できる場合にしばしば用いられる。従ってこのサンプリングプランは、衛生指標生物、低レベルで疾病を起こす可能性が低い病原体に、および微生物汚染を許容レベルへ低下させるさらなる加工を受けると期待される製品について適用されうる。

消費者(および生産者)リスクポイントを満たすサンプリングプランを作成するための、ガイドスプレッドシートの二階級濃度タブを用いる基本的な統計学的手法は、二階級存在-非存在サンプリングプランについて説明されたものと概ね類似している(“2.8.6.5まとめ-二階級存在-非存在サンプリングプラン”)。前の通り、この手法は MC を作成すべき背景に沿って適用すべきである。

1. この平均濃度(以上)のロットがほとんどの場合不合格となるべき、ロット中の‘許容できない平均濃度’(μ_1)を決定する。
2. そのようなロット(平均濃度 μ_1 以上)がどのくらいの頻度で許容されうるか、すなわち平均濃度が μ_1 である場合に許容できる P(合格)の最大値を P_1 (合格)としてその値は何かを決定する。¹²
3. 標準偏差について適切な値をガイドスプレッドシートに入力する。
4. c をゼロとする(開始点として)。
5. n について実際的な値を選択する。
6. n および c の値をガイドスプレッドシートに入力する。
 - a. 選んだ μ_1 について P(合格)が選択した P_1 (合格)(ステップ 2)より大であれば、 n の値を 1(以上)増やし、P(合格)の値が P_1 (合格) 以下になるまでステップ 5を繰り返す。¹³
 - b. 選んだ μ_1 について P(合格)が選択した P_1 (合格)(ステップ 2)未満であれば、 n の値を 1(以上)減らし、P(合格)の値がちょうど P_1 (合格) を上回るまでス

ステップ 5 を繰り返す。ここで n の値を 1 増やして、 $P(\text{合格})$ が $P_1(\text{合格})$ 以下であることを確実にする。

7. c が 0 より大でよいならば、OC 曲線が許容できることをチェックする。特に、低い平均濃度 (μ_0) で許容の確率 $P_0(\text{合格})$ が許容できるかどうかおよび小さすぎないかどうかをチェックする。¹⁴ 許容の確率が許容できるならば終了である。しかし $P(\text{合格})$ が小さすぎるすなわち $P_0(\text{合格})$ 未満であるならば、プランが要求事項を満たすまで、すなわち許容の確率が平均濃度 μ_1 で $P_1(\text{合格})$ 以下および平均濃度 μ_0 で $P_0(\text{合格})$ 以上となるまで、 c を 1 増やして工程をステップ 5 から、 c をさらに増やすことを含めて繰り返す必要がある。

この工程を示す動画は <http://youtu.be/wOSMpGhokXo> を参照。

¹² μ_1 および $P_1(\text{合格})$ の組み合わせは *消費者リスクポイント* と呼ばれる (“2.8.5 消費者および生産者リスクポイントとは何か”を参照)。対応する値をセル B16 および C16 に入力できる。

¹³ セル D16 に示される実際の $P(\text{合格})$ が赤フォントから緑へ変わる。

2.8.8 三階級(濃度に基づく)サンプリングプラン

三階級濃度に基づくプラン(Bray et al. 1973)は、微生物の \log_{10} 濃度の正規分布を仮定するので二階級濃度に基づくプランと同様である。しかし、許容できるおよび許容できない濃度の間を鑑別するのに用いられる単一の基準値(m)の代わりに、ここでは2つの基準値がある。かろうじて許容される基準値(m)が、かろうじて許容できる濃度から許容できる濃度を鑑別し、および許容できない基準値(M)が、許容できない濃度からかろうじて許容できる濃度を鑑別する(図7)。従って、三階級プランはまた、衛生指標生物または低レベルで疾病を起こす可能性が低い病原体についてのように、低レベルの汚染が許容できる場合に用いられる。二階級濃度によるプランとは対照的に、この種のプランは、許容できない濃度を定義する明確な上限基準値(M)を設定するための科学的根拠または作業的根拠が存在する場合に用いられる。この状況では、 m の値を GMP 下で標的生物の最大許容濃度として設定することが可能かもしれない(Dahms and Hildebrandt, 1998)。

この種のサンプリングプランは下記によって定義される。

- 分析単位量(w)、すなわち各分析単位の量(質量、体積、面積)
- サンプルサイズ(n)、すなわち採取されるサンプル単位の数
- 分析単位が許容できるか、かろうじて許容できるか、許容できないかを決定するために用いられる、かろうじて許容されるおよび許容できない微生物学的基準値 $s(m$ および $M)$
- 許容数(c)、すなわち当該ロットがなお許容できると考えられる、基準値 M でなく m を超えてよい分析単位の数。

加えて、三階級サンプリングプランの性能を評価するために、分析単位間の \log_{10} 濃度の標準偏差(SD)の推定が必要である。

ロットを不合格にすることなく一部のサンプル単位が M を上回ってよいサンプリングプランを作成することは可能である一方、これらは食品における MC に関して一般には用いられない。15

¹⁴ μ_0 および P_0 (合格)の組み合わせは生産者リスクポイントと呼ばれる(“2.8.5消費者および生産者リスクポイントとは何か”を参照)。対応する値をセル B15 および C15 にそれぞれ入力できる。

二階級濃度に基づくプランと同様に、 \log_{10} 濃度は正規分布すると仮定していることに注意する。しかし、この仮定は、平均値および標準偏差があれば、許容できる、かろうじて許容できるおよび許容できないと予想される食品中の濃度の割合を計算できるようにするために限り重要である。しかし、この仮定に反する証拠があるならば、別の分布を使用できるが、この状況はあまり一般的でなく、本文書の範囲を越える。ウェブベースのツール (<http://www.fstools.org/sampling>)は代替りの分布のための柔軟性を実際提供している。

ここで各分析単位について3つの可能な結果が存在するので(許容できる、かろうじて許容できるおよび許容できない)、二項分布はもう適用できず、三項分布が代わりに用いられる。平均値および標準偏差が与えられている限り(図26)、3つの結果のそれぞれが起こると予想される確率を正規分布から計算できる(図27)。これらの確率は次に、三項分布を用いた許容の確率の計算に用いられる。

OC 曲線は、X 軸上の平均 \log_{10} 濃度と(図 28)または X 軸上の算術平均濃度と(図 29) プロットできる。上で指摘の通り(“2.8.3.1OC 曲線の X 軸には \log_{10} 幾何平均を、それとも算術平均を使うべきか”)、達成されている管理水準を強調するために、食品中の実際の濃度を用いて、後者の手法を用いることを勧める(例 4も参照)。数学的詳細は付録“A1.5 三階級サンプリングプラン”に示され、P(合格)の計算および随伴する OC 曲線はガイドスプレッドシートの三階級濃度タブにある。図 26～図 29を作成するために用いられた計算を例 18に示す。

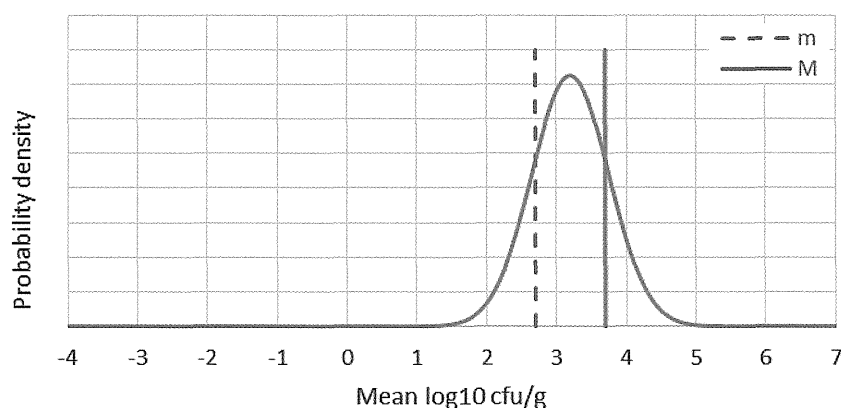


図 26: 平均値=3.2 \log_{10} cfu/g、SD=0.55 \log_{10} cfu/g および微生物学的基準値 $m=2.7\log_{10}$ cfu/g および $M=3.7\log_{10}$ cfu/g の正規分布のプロット。分析単位がかろうじて許容できる($m<$ 濃度 $\leq M$)および許容できない(濃度 $>M$)確率は図 27 に示す。
確率密度 平均 \log_{10} cfu/g

15 一部の文献では c の定義は許容できない(または悪い)サンプル単位の数を含み、およびゆえにここで用いられる定義とは異なることに注意する。しかし、微生物学的背景では、サンプル中に許容できない単位を許さないことは普通であり、およびゆえにその2つの定義はこの場合は等価である。

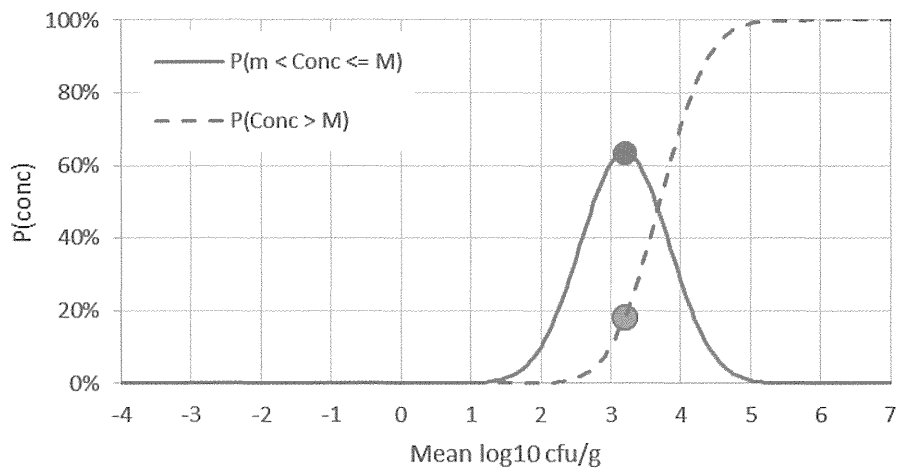


図 27: $SD=0.55\log_{10}\text{cfu/g}$ 、 $m=2.7\log_{10}\text{cfu/g}$ および $M=3.7\log_{10}\text{cfu/g}$ で、食品がかろうじて許容される確率 $P(m < \text{濃度} \leq M)$ 、および許容できない確率 $P(\text{濃度} > M)$ 。赤点は、ロット中の平均 \log_{10} 濃度 (\log_{10} 幾何平均) が $3.2\log_{10}\text{cfu/g}$ に等しい場合の確率を示す(例 18)。

P(濃度) 平均 $\log_{10}\text{cfu/g}$

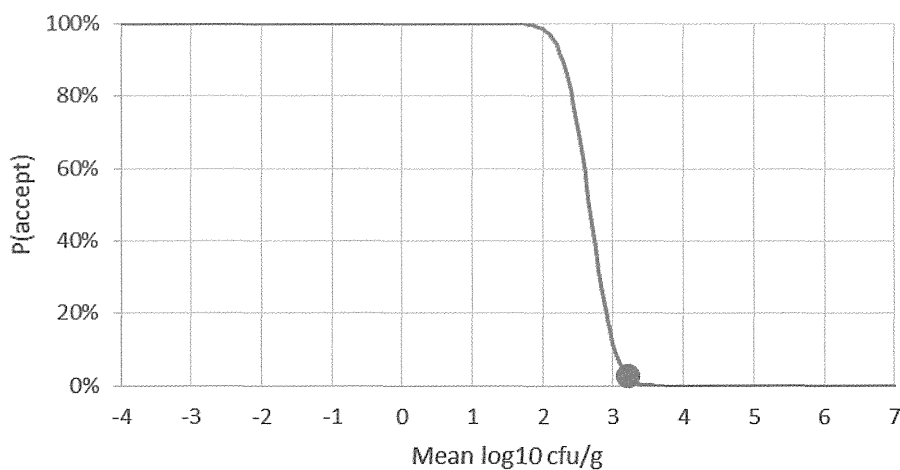


図 28: $n=5$ 、 $c=2$ 、 $m=2.7\log_{10}\text{cfu/g}$ 、 $M=3.7\log_{10}\text{cfu/g}$ および $SD=0.55\log_{10}\text{cfu/g}$ のサンプリングプランについて、X 軸に平均 \log_{10} 濃度 (\log_{10} 幾何平均) を用いる、三階級濃度によるサンプリングプラン OC 曲線。赤点は、ロット中の平均 \log_{10} 濃度 (\log_{10} 幾何平均) が $3.2\log_{10}\text{cfu/g}$ に等しい場合の P(合格) を示す(例 18)。

P(合格) 平均 $\log_{10}\text{cfu/g}$

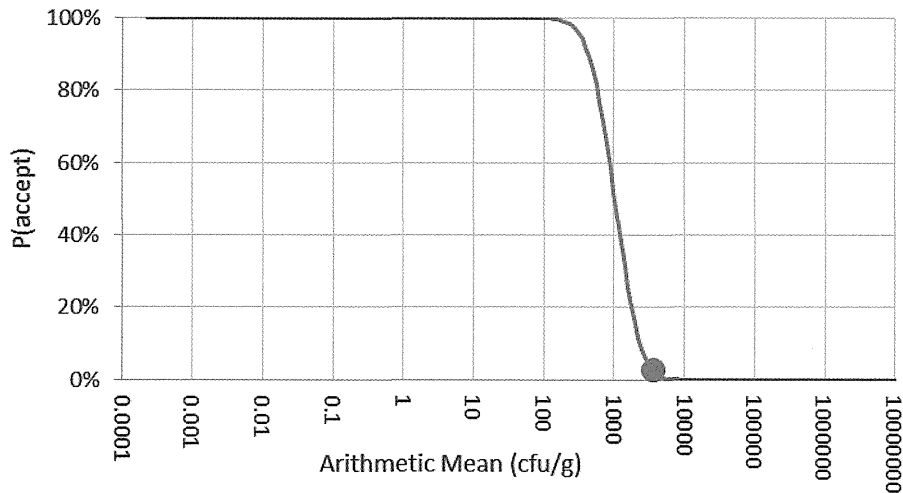


図 29: $n=5$ 、 $c=2$ 、 $m=2.7\log_{10}\text{cfu/g}$ 、 $M=3.7\log_{10}\text{cfu/g}$ および $SD=0.55\log_{10}\text{cfu/g}$ のサンプリングプランについて、X 軸に算術平均濃度を用いる、三階級濃度によるサンプリングプラン OC 曲線。赤点は、算術平均=3534cfu/g(例 18、 $3.2\log_{10}\text{cfu/g}$ の \log_{10} 幾何平均と等価) の場合の P(合格)を示す。

P(合格) 算術平均(cfu/g)

例 18:三階級区分サンプリングプラン P(合格)

ICMSF(2011)に示される、調整粉乳のための好気性平板菌数(APC)についてのサンプリングプラン $n=5$ 、 $c=2$ 、 $m=500\text{cfu/g}$ および $M=5000\text{cfu/g}$ (m および M は \log_{10} 目盛でそれぞれ 2.7 および 3.7) を考える。

APC が \log_{10} 目盛上で正規分布し標準偏差 $0.55\log_{10}\text{cfu/g}$ と仮定すると、随伴する OC 曲線を作成するのに、ガイドスプレッドシートの三階級濃度タブの計算を用いることができる。

スプレッドシートツールから、平均 \log_{10} 濃度が $1.0\log_{10}\text{cfu/g}$ に等しい(算術平均は 22.3cfu/g に等しい)ならば、サンプル単位の 99.90%が m 未満の濃度、0.10%が m ないし M の濃度、およびサンプル単位の 0.00%が M を上回ると予想されることが分かる。ゆえに許容の確率は $P(\text{合格})=100.0\%$ に等しい。

再び、小さい P(合格)、例えば 5%を与える平均 \log_{10} 濃度を探しているならば、P(合格)が 5%をちょうど下回るまで \log_{10} 平均を変化させることができる。ここで許容の確率は、平均 \log_{10} 濃度が $3.13\log_{10}\text{cfu/g}$ (小数点以下 2 桁まで)に等しい (算術平均が 3008cfu/g に等しい) 時、 $P(\text{合格})=4.82\%$ に低下する。このシナリオについて、サンプル単位の 21.66%だけが m 未満の濃度であり、63.29%が m ないし M の濃度、および 15.05%が M を上回ると予想される。

これらの計算を示す動画はhttp://youtu.be/tU-RbLu_sBwを参照。

2.8.8.1 分析単位量(重量/体積/面積)がどのように許容の確率に影響を及ぼすか

二階級濃度によるプランと同様に、分析単位量は二階級存在-非存在サンプリングプランについてよりも重要性が低い。加えて、計数方法からの結果は分析変動を受け、およびゆえに二階級濃度によるプランについてと同じ助言がここでも当てはまる

(“2.8.7.1分析単位量(重量/体積/面積)がどのように許容の確率に影響を及ぼすか”)。すなわち、サンプル単位量および分析単位量は、微生物学的計数結果が適切になるように、サンプリングのための理由と関連する必要がある、および結果を適切に解釈できるように、分析方法の性能を理解する必要がある。

2.8.8.2 濃度のレベルがどのように許容の確率に影響を及ぼすか

二階級濃度によるサンプリングプランについては、食品中の平均濃度が高いほど、ロットが許容される可能性は低い(図 29)。しかし、1 個だけ(m) でなく 2 個の基準値(m および M) があるために、ここでは状況はもう少し複雑である。

そこで、平均 \log_{10} 濃度、およびゆえに算術平均が増加するにつれ、かろうじて許容できる濃度のパーセンテージもまた増加し、最終的には、許容できない濃度のパーセンテージもまた増加する(図 27)。平均 \log_{10} 濃度が m および M の中点である場合、かろうじて許容できる濃度(m より大および M 以下)のパーセンテージは最大になり、一方、許容できない濃度(M より大)のパーセンテージは平均 \log_{10} 濃度が増加するにつれ増加し続ける。

再び、例えば達成されている管理水準および/またはリスクを評価するために、食品中の生物の実際の数について推定したいならば、 \log_{10} 目盛でなく算術目盛でこれを行う必要があることを指摘する価値がある(“1.2.3なぜ \log_{10} を使うのか、およびなぜその解釈に注意が必要なのか”も参照)。

2.8.8.3 かろうじて許容されるおよび許容できない基準値(m および M)がどのように許容の確率に影響を及ぼすか

上で指摘された通り、GMP 下の最大許容濃度を反映する m および M の値、および食品について汚染の許容できない基準値をそれぞれ選択するのは理に適っている。一部の状況では、そのような自然の基準値は存在しないが、三階級サンプリングプランの適用がそれでも望まれるかもしれない。Dahms and Hildebrandt (1998)は、 m および標準偏差が一旦与えられれば M を決定する方法、または M および SD から m を計算する方法について手引きを示す。

二階級濃度によるサンプリングプランと同様に、 m および M の効果は、平均濃度および特に標準偏差の大きさと相対的である。標準偏差($SD=0.55$)、サンプルサイズ($n=5$)および許容数($c=2$)を固定しながらの m および M の様々な選択の効果は、図 30および図 31から分かる。図 30では m および M の大きくなる値について 3 本の OC 曲線があるが、それらの間の距離は $1\log_{10}$ で一定のままである。その効果は、 m および M の増加につれて OC 曲線が単純に右側にシフトすることであり、なぜなら、より高レベルの汚染が許容できるからである。しかし、曲線の形状は 3 本の曲線すべてについて同一である。