



## 細菌学的検査の業務管理

東京都立衛生研究所 精度管理室 神保勝彦

### 1. はじめに

細菌検査は定められた検査法で行っても、その検査結果の信頼性は、検査担当者における細菌学的知識、経験、検査室のレベル等(上司、同僚、後輩等の関係)によって左右される面がある。近年、機械器具、培地試薬の性能の向上、簡易検査キットの開発がなされているが、検査員個人に対する統一した教育及び技術を習得する場が無く、検査室内で教育訓練を行っている検査機関が多い。そのため、初心者は狭い範囲での知識しか得ることができず、技術も伸び悩み、その結果、熟練者あるいは長年検査に携わってきた職員の検査結果の方が信頼されることになる。

GLPは、誰が検査しても精度良く信頼される検査結果が得られるように意図された方式であるので、特定の個人だけしかできない検査法、検査の進行状況が判らない、初心者が実施した検査結果が正しくとも信頼されないなどは、GLPの本質から外れていると云わざるをえない。細菌検査の業務管理を確実に実行するには、そのための体制を作るのが重要であり、更に、誰もが確実に実施でき、認める標準作業書(SOP)を作ることであろう。

標準作業書は厚生省通知に基づき作成するが、機械器具保守管理、試薬等管理、動物飼育管理、試験品取扱、検査実施標準作業書等を完成するには相当の時間と労力を費やすことになるであろう。特に、検査実施標準作業書を、検査項目、食品別に作成すると、その数は膨大になるが、食品衛生検査指針及び衛生試験法注解等に準拠して作成すると容易であろう。なお、煩雑且つ難しい内容(記載)にする必要はなく、初心者でも理解でき、容易に検査が実施できるものにするのが重要である。

GLPにおける検査は、標準作業書に従って行うのが原則であり、検査時にそれらの標準作業書を携えて検査を行うことになるが、実際上は、極めて煩わしく、標準作業書を確認しながら検査を行うことは難しい。そこで、例えば標準作業書の要点を図にした作業行程を作り、検査時にチェックあるいは記録しながら検査するのも一方法であろう。すなわち、各項目毎に実施者名、年月日(出来れば時間も)、機械器具の点検記録、異常発生時の記録・処置、試薬・培地等の記録、SOPから逸脱した場合等を記録することにより検査行程が透明化され、業務管理が円滑に行えるようになるであろう。

### 2. 細菌学的検査における精度管理

精度管理は、検査担当者の技能を正しく評価し、技術水準を確保するとともに、定められた検査法で得られた検査結果を確認し保証するために、極めて重要である。精度管理の方法としては、平成9年4月に厚生省から「精度管理の一般ガイドライン・微生物学的検査における精度管理」が示された(表1)。しかし、一般ガイドラインは情報が少なく、どのような方法で精度管理を行ったらよいのか、検査機関では暗中模索しているのが現状ではないだろうか。標準化された精度管理の方法が確立されていない現段階では、検査担当者に多くの負担を強いることなく、日常業務に支障なく実施できる方法で行うことが望ましい。

## 精度管理を行う頻度

「1回の検査で20検体を超えるごとに精度管理を行う」ことは、極めて煩雑であり日常検査に取り入れることは難しく、また、高濃度の細菌が接種された試験品及び通常検出されない病原菌を接種した試験品と細菌汚染のない食品(検体)を同時に扱うことにも問題があると考えられる。

精度管理を無理なく行うには、通常検体を扱わないときに検査室(検査機関)の実状に併せて実施することが実際的であると思われる。または、検査項目が替わるときに、あるいは定期的に項目を定めて行うのも一方法であろう。

表1 精度管理の一般ガイドライン(微生物学的検査)

試験品の種類	通常の試験品	既知の微生物を含む試験品	
		通常検出される微生物	通常検出されない微生物
検査頻度	1回の検査で20検体を越えるごと	検査を実施する都度	検査を実施する都度
添加濃度		基準値及び基準値の1/5程度 陰性対照の食品培地対照	検出限界値の5倍程度の濃度 陰性対照の食品培地対照
目標値		5回以上繰り返し検査する。回収率70~120% 平均値及び標準偏差の設定	
評価		既知の微生物が不検出、陰性対照の試験品及び培地対照から検出された場合、原因究明、改善措置をする。 <b>Z-スコアによる評価</b>	

## 添加濃度

通常検出される微生物の「基準値程度の濃度」あるいは「基準値の1/5程度の濃度」の基準値を成分規格の細菌数に読み替えた場合、添加濃度をどの程度にしたらよいか判断に苦慮するところである。また、少数の細菌を添加し、均一の安定した試験品を作製することは極めて難しい。精度管理を正しく評価するには、均一の安定した試験品を作ることが重要であり、それにはある程度高濃度の細菌数( $10^4 \sim 10^7/g$ )を添加する必要がある\*。

通常検出されない微生物の「検出限界値の5倍濃度」については、仮に、検出限界値が1個/gの場合、試験品25gに添加する細菌数は $1 \times 25g \times 5 = 125$ 個であり、この細菌数を調整し、安定した均一の試験品を作製することは極めて難しい。検査結果を正しく評価するためには、添加した細菌が確実に検出されることが必須条件であるので、試験品中に細菌数が $10^3 \sim 10^6/g$ 位存在する必要がある。

## 目標値

細菌の増殖は、菌株の種類、培養条件等によって違うことから、培養菌液の菌数を正確に知ることは難しく、試験品に接種した菌数も正確には判らない場合が多い。そのため、回収率を求めても、その値が信頼できるかは疑問である。また、対象とする検査員が少数の場合、信頼できる平均値及び標準偏差を得ることはできないと思われる。

回収率、平均値及び標準偏差の目標値を設定し、精度管理を行うことができれば、GLPは急速に進展するであろう。しかし、標準とする方法あるいは信頼できる方法が示されていない現在、ガイドラインで示された目標値を設定し精度管理を行うことは難しいと思われる。日常業務の中で無理なく実施するには、目標値をオーダーレベルにおき、試験品の秤量、希釈する段階から精度管理を行うことのほうが実際的であると考えられる。

## 評価

精度管理の評価を統計上の数値で行うことは分かりやすく、評価しやすいが、しかし、Zスコアで評価する場合、対象とする数(検査員又は施設)が少ないと、正しい評価をすることができないことがある。例えば、表2に示したように測定者Dが間違えて細菌数を0(ゼロ)、あるいは一桁間違えて $36 \times 10^5$ と高い値を報告した場合でも、Z値は2以上にならない。しかし、このような検査結果については当然評価を行い、原因究明、改善措置をしなければならない。また、目標とする微生物が検出されない場合、均一の安定した試験品あるいは添加した微生物が確実に生残していることを確認せずに、安易に評価するのは避けた方がよい。精度管理を実施し、評価することは重要であるが、現在のところは、信頼できる方法は見あたらない。細菌学的検査の精度を向上させるには、研修等をとおして検査員に細菌学の知識及び技術を習得させることも重要であろう。

表2  
細菌数の測定結果

測定者	細菌数	Z-スコア
A	$47 \times 10^4$	1.33
B	$42 \times 10^4$	0.05
C	$42 \times 10^4$	0.05
D	<b><math>36 \times 10^4</math></b>	<b>-1.49</b>
E	$42 \times 10^4$	0.05
Mean	418,000	
SD	38,987.2	

測定者Dが誤って細菌数を0と報告した場合

測定者	細菌数	Z-スコア
A	$47 \times 10^4$	0.64
B	$42 \times 10^4$	0.38
C	$42 \times 10^4$	0.38
D	<b>0</b>	<b>-1.78</b>
E	$42 \times 10^4$	0.38
Mean	346,000	
SD	194,627.9	

測定者Dが誤って細菌数を $36 \times 10^5$ と報告した場合

測定者	細菌数	Z-スコア
A	$47 \times 10^4$	-0.42
B	$42 \times 10^4$	-0.46
C	$42 \times 10^4$	-0.46
D	<b><math>36 \times 10^5</math></b>	<b>1.79</b>
E	$42 \times 10^4$	-0.46
Mean	1,066,000	
SD	1,416,714.5	

## 3. 内部点検

検査もしくは試験又は試験品の取扱いの業務の管理が適切に行われていることを確認することを目的として行うものであり、確実に実施するには内部点検の実施方法を定めた要領を作る必要がある。

- ①内部点検実施年度計画
- ②内部点検実施マニュアル
- ③内部点検記録の保管
- ④改善措置の要請
- ⑤改善措置の指示、確認及び記録の保管
- ⑥改善措置の報告
- ⑦改善措置の確認及び記録の保管

内部点検は人を相手とすることから、確実に実施できるかは難しい面がある。内部点検を成功させるには、常に検査部門との連絡を密にし、点検内容を文書化し、透明化することが重要である。信頼性確保部門責任者又は指定した職員は原則として2人以上で内部点検マニュアルに従って行き、点検開始前に手順の概要を述べるとともに、必要に応じて検査内容などの説明を受けると、点検がしやすくなる。また、点検終了後に点検結果の概要を講評することも大切である。

\* 市販の枯草菌芽胞液は、 $1.0 \sim 1.5 \times 10^7$ /mLに調整され、均一の安定した試験品を作製することができるのでお勧めする。