

平成 28 年度厚生労働科学研究費補助金(食品の安全確保推進研究事業)  
「ウイルスを原因とする食品媒介性疾患の制御に関する研究」  
研究分担報告

### ウイルスの食品検査の精度管理

研究分担者	鈴木 達也	一般財団法人食品薬品安全センター
研究協力者	中阪 聡亮	一般財団法人食品薬品安全センター
	野田 衛	国立医薬品食品衛生研究所
	上間 匡	国立医薬品食品衛生研究所
	吉澄 志磨	北海道立衛生研究所
	筒井 理華	青森県環境保健センター
	斎藤 博之	秋田県健康環境センター
	菅原 直子	宮城県保健環境センター
	宗村 佳子	東京都健康安全研究センター
	新井 礼子	新潟県保健環境科学研究所
	稲崎 倫子	富山県衛生研究所
	入谷 展弘	大阪市立環境科学研究所
	三好 龍也	堺市衛生研究所
	山本 美和子	広島市衛生研究所

#### 研究要旨

国内で食品のノロウイルス検査を実施している 10 機関を対象として、共通試料を配布することにより外部精度管理調査を行った。検体 7 種〔高濃度検体：3 種、低濃度検体：3 種（3 種はいずれも同一濃度）および陰性検体：1 種〕、および標準 DNA 溶液を調査検体として配布し、定量検査を各検査機関にて実施した後、回収した結果の解析を行った。なお、繰り返し測定回数は 2 回とした。また、検査方法はあらかじめ指定した共通の方法とし、検量線作成用陽性コントロール溶液も共通とした。その結果、検量線の濃度範囲を  $10^1$  コピーまで拡張しても、相関係数は  $10^3$  コピー以上の濃度範囲の場合と同等であった。また、標準 DNA 溶液において 1 機関で高めの値を報告したが、その他の検査試料では全ての検査機関で正しく検査が実施されているものと考えられた。これらの結果のばらつきは非常に小さいものであった。また、参加機関の評価を行うため Xbar-R 管理図を参考とした解析または z-スコア管理図を採用したが、より多くの検査機関が参加した場合に検査結果のばらつきが大きくなる可能性も否定できないことから、評価に用いる管理限界線の値

について、経験則に基づいた一定の標準偏差を用いることも一案であると考えられた。

## A. 研究目的

食品検査はその食品の安全性を担保するためのひとつの手段であるが、この検査結果をもって市場への流通の可否を判定することとなるため、その結果の妥当性を明確にする必要がある。また、一定の基準で結果を判断するためには、どの検査機関で実施しても同等の検査結果が得られることが求められる。そのためにも結果の信頼性を確保する必要があり、食品検査については平成9年度よりGLP制度が導入された。また、国際的な試験所認定でもあるISO/IEC17025では定期的な技能試験への参加が求められている。現在、一般的な微生物検査については国内においても技能試験が実施されているが、ノロウイルス検査については国内では導入されていない。また、これまでの結果から各検査機関で使用している検量線作成用陽性コントロールDNA溶液濃度にばらつきがあること、外部精度管理調査結果においてばらつきを小さくするためには、試験方法や検査担当者等を限定する必要があることがわかった。そのため、本研究では、共通検体を用いた外部精度管理調査を行うことにより、結果の再現性を得ること、ならびに得られた結果をもとに各検査機関の評価方法を確立することを目的とした。

## B. 研究方法

### 1. 調査試料

調査試料は検査試料(ノロウイルスGII

陽性または陰性の10%肉エキス加PBS(-)および標準DNA溶液とした。このうち、検査試料については2濃度(各3本)とし、1本については陰性とした。なお、検体-1、検体-3および検体-6を高濃度検体、検体-4、検体-5および検体-7を低濃度検体とした。また、標準DNA溶液については濃度未知の1本と濃度既知2本( $10^1$ コピーおよび $10^2$ コピー)の合計3本とした。このうち濃度既知の標準DNA溶液については、検量線の相関性確認に使用した。調査試料の均質性の確認は、国立医薬品食品衛生研究所で実施した。なお、均質性確認試験結果は以下のとおりであった。高濃度検体: $9.18 \times 10^4 \pm 5.81 \times 10^3$ コピー、低濃度検体: $2.27 \times 10^3 \pm 2.77 \times 10^2$ コピー。

### 2. 外部精度管理調査の実施

協力機関である10機関を対象として、2016年7月5日に国立医薬品食品衛生研究所より調査試料の発送を行った。なお、検査方法については、あらかじめ指定した共通の検査方法(QIAamp Viral RNA Miniキットを用いたRNAの抽出、DNase処理、逆転写反応およびリアルタイムPCRの実施)とした(表1)。また、検量線作成用陽性コントロールDNA溶液は共通とし、調査試料と同時に配布した。各検査機関における繰り返し測定回数はそれぞれ2回とした。各検査機関より各調査検体のCt値、実測値および換算値を回収し、得られた結果について統計解析を行った。あわせて、採用した検査方法(表2)および検量線の情報についても回収した。な

お、統計解析、Xbar-R 管理図を参考とした管理図および z-スコア管理図の作成には JMP ver. 11 を使用した。各検査試料における平均値の群間比較は Tukey-Kramer の HSD 検定により行い、 $p < 0.05$  のとき有意差ありとした。

(倫理面への配慮)

本研究では、特定の研究対象者は存在せず、倫理面への配慮は不要である。

### C. 研究結果

#### 1. 検量線の解析

これまでに実施した外部精度管理調査では、検量線の濃度範囲を  $10^3$  コピーから  $10^6$  コピーで作成していた。しかし、陽性判定を行う濃度が  $10^1$  コピー以上であることを考慮すると、上記の濃度範囲で検量線を設定した場合、検量線外での定量を行うこととなるため、正しい定量結果が得られているかについては不明である。そこで、既知濃度の標準 DNA 溶液 ( $10^1$  コピーおよび  $10^2$  コピー) を用いて検量線の濃度範囲を  $10^1$  コピーまで拡張したときの相関係数について観察することとした。その結果、検量線のパターンは図 1 に示した 3 パターンに分類された。すなわち、2 回の繰り返し測定においてほぼ同等の Ct 値が得られる (A)、 $10^2$  コピー以上の濃度範囲ではほぼ同等の Ct 値が得られているが、 $10^1$  コピーにおいてわずかにばらつきが生じる (B)、および全濃度範囲において同様の傾向が得られているがわずかにずれが生じている (C) である。しかし、いずれのパターンにおいても検量線の相関係数は  $10^3$  以上の濃度範囲と比較して、

$10^1$  コピー以上に濃度範囲を拡大してもほぼ同等の相関係数が得られた。

#### 2. 調査試料における Ct 値の解析

標準 DNA 溶液および検査試料の Ct 値について観察した。その結果、1 機関を除いて標準 DNA 溶液ではほぼ 2 サイクルの範囲に、検査試料ではほぼ 3 サイクルの範囲にあった (図 2)。

#### 3. 調査試料における実測値の解析

実測値について観察したところ、標準 DNA 溶液および検査試料の実数解析での基本統計量は表 3 のとおりであった。また、ヒストグラムおよび正規確率プロットを図 3~5 に示した。さらに検査試料は高濃度検体、低濃度検体のいずれも 3 本で同一濃度であったが、検査試料間の平均値の比較を行ったところ、高濃度検体および低濃度検体のいずれにおいても有意差は認められなかった (図 6)。一方、対数解析についても同様に行い、基本統計量を表 4 に示した。また、各調査試料におけるヒストグラムおよび正規確率プロットを図 7~9 に示した。報告値の平均値についても実数解析の場合と同様、検査試料間で有意差は認められなかった。一方、標準 DNA 溶液における標準偏差は検査試料と比較すると明らかに小さかった。さらに、実数解析と対数解析における変動係数を比較したところ、実数解析のほうが明らかに変動係数は大きかった。

#### 4. 調査試料における換算値の解析

検査試料の 1 mL あたりの換算値の実数解析および対数解析での基本統計量は表 5 および表 6 のとおりであった。実測値の場合と同様、報告値の平均値において検査試料間で有意差は認められなかった

(データには示していない)。

#### 5. 外部精度管理調査の評価方法の検討

外部精度管理調査における最終的な目的は参加機関から提出された結果の評価を行うことである。そこで、上記の解析により得られた平均値および標準偏差を用いた z-スコアによる評価を行った。また、これと並行して今回の外部精度管理調査では 2 回の繰り返し測定を行ったことから、2 回の測定の差、すなわち R を評価対象として加え、Xbar-R 管理図を参考とした評価を行うこととした。Xbar-R 管理図を代用した評価は、食品衛生外部精度管理調査でも採用されている方法であるが、食品衛生外部精度管理調査のように添加回収等を指標とした管理限界線の設定ができないことから、z-スコアにおける判断基準である  $|z\text{-スコア}|=2$  および 3 を管理限界線として採用し評価を行った。その結果、実数測定の場合、標準 DNA 溶液では z-スコア、Xbar-R 管理図を参考とした評価のいずれにおいても検査機関の評価を行うことは可能であったが (図 11)、検査試料においては z-スコアによる評価は見かけ上可能であるものの、Xbar-R 管理図を参考とした評価では Xbar 管理図の下部管理限界線の値がマイナスの値となった (代表例として検体 -1 の結果を図 13 に示した)。これに対し、対数解析では Xbar-R 管理図を参考とした評価においても上部、下部管理限界線のいずれもプラスの値として設定することができた (図 12、14~19)。以上のことから、対数解析による参加機関の評価を行ったところ、標準 DNA 溶液において 1 機関で z-スコアが 2 以上の値を示した機

関が認められたが、それ以外の検査試料ではいずれも正しく検査が実施されているものと判断した。また、R 管理図においても全ての調査試料で管理限界線を超える機関は認められなかった。

#### D. 考察

検量線の作成において標準 DNA 溶液として配布した試料を検量点として加えた場合の相関係数について観察したところ、 $10^3$  コピー以上の濃度範囲で作成した検量線とほぼ同等の相関係数が得られた。ノロウイルス検査では  $10^1$  コピー以上で陽性と判定することから、仮に判定基準値付近の濃度で調査試料を作製した場合には、現行の外部精度管理調査では検量線の範囲外で定量する可能性を含むこととなる。そのため、 $10^1$  コピー以上の濃度範囲においても  $10^3$  コピー以上での検量線とほぼ同等の相関係数が得られたことは、低濃度域での定量性の確保という意味でも大きいものと考えられる。また、機関 H において全ての測定で Ct 値が他の検査機関と比較して高かったが、これは Th line の設定方法に基づく可能性が考えられた。なお、機関 H の定量値が他の検査機関と比較して低いということはなかったことから、本検査機関においては Ct 値が高いことが定量結果に与える影響はないものと考えられた。また、高濃度検体および低濃度検体の変動係数は 5~10%であり、非常にばらつきの小さな結果が得られた。一方、標準 DNA 溶液については  $10^5$  コピーの未知試料については変動係数が 1.3%と非常に小さかったが、 $10^2$  コピーでは 5%、 $10^1$  コピーでは 13%であっ

た。このことは標準 DNA 溶液でもより低濃度となることによりばらつきの要因が増える可能性を示唆した。さらに、標準 DNA 溶液と検査試料における変動係数を比較すると、検査試料のほうが大きい傾向にあることから、リアルタイム PCR による測定のみならず抽出工程を含むことでばらつきが大きくなることが示唆された。これらの結果を用いて参加機関の評価を行った。このとき、実数解析を行った場合、z-スコアによる評価においては見かけ上、評価を行うことは可能であったが、Xbar-R 管理図を参考とした評価において、変動係数が 0.5 を超えていることから Xbar 管理図の下部管理限界線の値がマイナスの値となった。このことは、検出限界未満であったとしても定量可能な濃度で検出できれば、評価を行ううえでは許容範囲内であると判断される可能性を含んでいる。そのため、実数解析はノロウイルス検査の外部精度管理調査を行ううえでは参加機関の評価方法としては適していないものと考えられた。一方、対数解析の場合には実数解析で認められたような傾向はなかった。以上のことから、参加機関の評価を行ううえでは、対数解析によって得られた基本統計量を採用することが適切であると判断した。これにより、各調査試料について解析を行ったところ、対数解析では標準 DNA 溶液における 1 機関を除いて、各検査機関において正しく検査が実施されているものと考えられた。しかし、今回得られた結果は、ある意味、エキスパート実験室で得られた結果であることから、他の検査機関が本外部精度管理調査に参加した場

合に、同様の結果が得られない可能性も考えられる。そこで、これらエキスパート実験室で得られた標準偏差を一定の判断基準として採用することが可能か、すなわち経験則に基づいた 1 組の管理限界線を設定することでの評価方法を採用することが可能なのかについて検討することとした。その結果、検査試料については標準偏差を 0.3~0.4 とすることで、高濃度検体、低濃度検体のいずれにおいても今回の z-スコア管理図と同等の評価を 1 組の管理限界線で行うことが可能であった (図 20、21)。これに対して標準 DNA 溶液では高濃度域において 0.1 程度でも十分に評価ができる可能性が示唆された。一般的に統計解析により得られる標準偏差は参加機関から回収された結果により変動するため、ばらつきが非常に大きくなる可能性を含んでいる。そのため、一定の許容範囲を設定することは目標値としての管理を行うことも可能となることから、判断基準が明確になるというメリットがある。しかし、ばらつきは採用する調査試料の基材によっても異なることから、これにより許容範囲を設定する場合には、より多くの調査試料を作製することで検証を進める必要があると考えられる。

## E. 結論

ノロウイルス GII 陽性または陰性の検査試料、合計 7 種と標準 DNA 溶液を調査試料として採用した外部精度管理調査を 10 機関を対象に実施した。その結果、検量線の濃度範囲を  $10^1$  コピーまで拡張することによっても  $10^3$  コピー以上の場合

と同等の相関係数を示した。また、調査試料についてはいずれの検査機関も陽性または陰性を正しく報告しており、かつ同一濃度の 3 本についても同様の検査結果が得られた。また、z-スコアおよび Xbar-R 管理図を参考とした評価を行ったところ、1 機関において標準 DNA 溶液で高めの値を報告したが、これ以外では正しく検査が実施されているものと判断した。さらに、Xbar-R 管理図における許容範囲を設定するため、一定の標準偏差を採用したときの外れ機関の発生について観察したところ、検査試料では 0.3~0.4 とした場合に、今回の z-スコアにおける評価と同等の結果を得ることができた。今後はより食品検体に近い調査試料を開発し、抽出工程のみならず、濃縮工程を含んだ外部精度管理調査を実施する必要がある

ものと考えられた。

#### **F. 研究発表**

1. 論文発表  
なし
2. 学会発表

鈴木達也、渡辺卓穂、中阪聡亮、梅津麻実、上間匡、野田衛、ノロウイルス検査の外部精度管理調査、第 112 回日本食品衛生学会学術講演会、函館、2016

#### **G. 知的財産権の出願・登録状況**

1. 特許取得：なし
2. 実用新案登録：なし
3. その他：なし

表1 指定した検査方法の詳細

検査方法		初期設定	
RNA抽出	RNA抽出キット	QIAamp Viral RNA Mini Kit(QIAGEN, 52904)	
DNase処理	DNase	Recombinant DNase I(タカラ, No. 2270A)	
	Buffer	5 × First-Strand Buffer : Super Script II RNase H- Reverse Transcriptase (life technologies, 18064-01)に添付	
	装置		
逆転写反応	逆転写酵素	Super Script II RNase H- Reverse Transcriptase ( life technologies, 18064-014):	
	反応バッファー	反作用バッファー(5 × SSII Buffer ) および 100mM DTT	
	RNaseインヒビター	Recombinant Ribonuclease Inhibitor (タカラ, 2313A)	
	cdNTPs mix	10mM dNTPs mix ( life technologies, 18427-013)	
	プライマー	ランダムプライマー ( life technologies, 48190-011)	
	装置		
リアルタイムPCR	マスターミックス	Taq Man Universal Master Mix	
	プライマー(合成受託会社)	COG2F	
		ALPF	
		COG2R	
	プローブ(合成受託会社)	RING2AL-TP	
リアルタイムPCR装置	7500(life technologies)		

表2-1 各検査機関における検査方法の詳細(1/2)

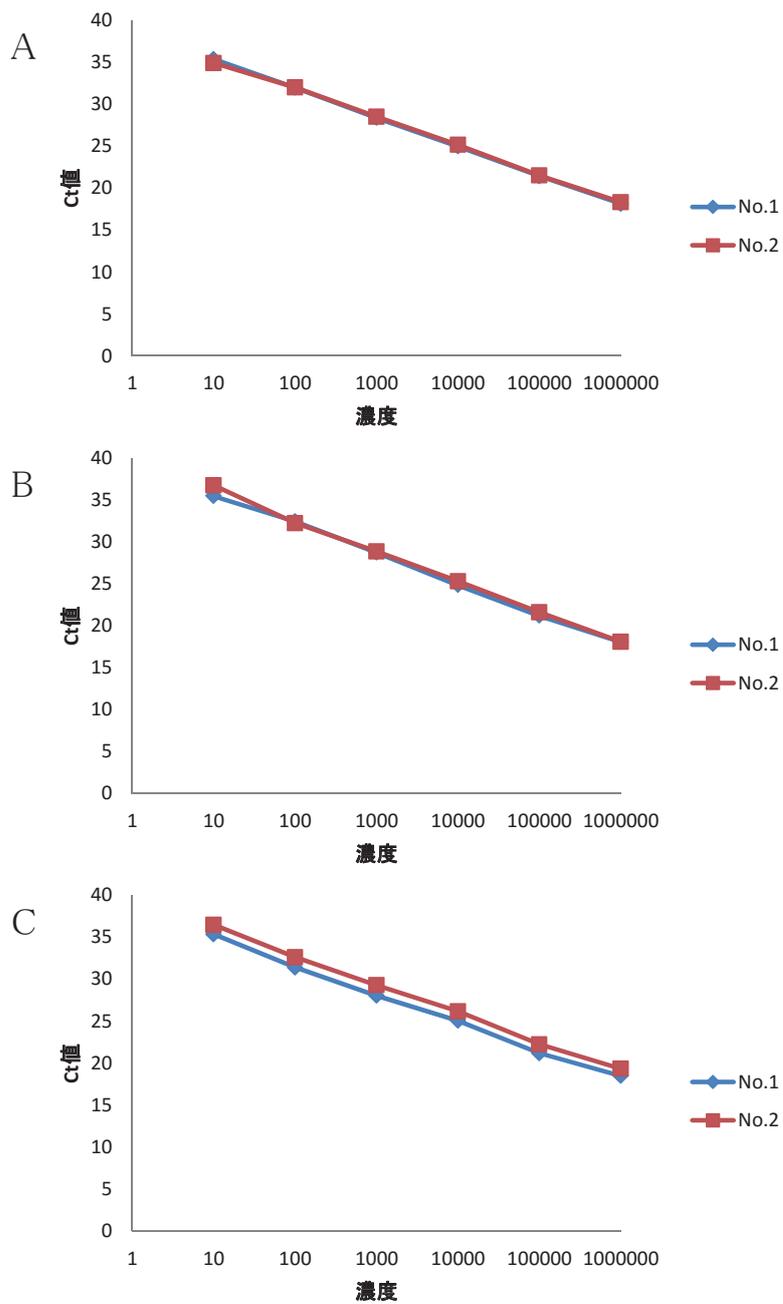
RNA抽出	機関A QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN, 52904)	機関B QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN, 52904)	機関C QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN, 52904)	機関D QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN, 52904)	機関E QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN, 52904)
RNA抽出キット	QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN, 52904)	QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN, 52904)	QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN, 52904)	QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN, 52904)	QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN, 52904)
Dnase処理	Recombinant DNase I (タカラ, No. 2270A) 5×First-Strand Buffer: Super Script II RNase H- Reverse Transcriptase (life technologies, 18064-01)に添付 Applied Biosystems® GeneAmp® PCR System 9700	Deoxyribonuclease(RT Grade) (ニッポンジーン, No.313-03161) 5×First-Strand Buffer: Super Script II RNase H- Reverse Transcriptase (life technologies, 18064-01)に添付 BT-23 (ヤマト科学株式会社)	Recombinant DNase I (タカラ, No. 2270A) 5×First-Strand Buffer: Super Script II RNase H- Reverse Transcriptase (life technologies, 18064-01)に添付 ABI2720	Recombinant DNase I (タカラ, No. 2270A) 5×First-Strand Buffer: Super Script II RNase H- Reverse Transcriptase (life technologies, 18064-01)に添付 TakaRa PCR Thermal Cycler Dice TP600 (タカラバイオ)	Recombinant DNase I (タカラ, No. 2270A) 5×First-Strand Buffer: Super Script II RNase H- Reverse Transcriptase (life technologies, 18064-01)に添付 Astec PC-805
逆転写酵素	Super-Script II RNase H- Reverse Transcriptase ( life technologies, 18064-014)	Super-Script II RNase H- Reverse Transcriptase ( life technologies, 18064-014)	Super-Script II RNase H- Reverse Transcriptase ( life technologies, 18064-014)	Super-Script II RNase H- Reverse Transcriptase ( life technologies, 18064-014)	Super-Script II RNase H- Reverse Transcriptase ( life technologies, 18064-014)
反応バッファ	反応用バッファ(5× SSII Buffer)および100mM DTT	反応用バッファ(5× SSII Buffer)および100mM DTT	反応用バッファ(5× SSII Buffer)および100mM DTT	反応用バッファ(5× SSII Buffer)および100mM DTT	反応用バッファ(5× SSII Buffer)および100mM DTT
RNAse-インヒビター	Recombinant Ribonuclease Inhibitor (タカラ, 2313A)	Recombinant Ribonuclease Inhibitor (タカラ, 2313A)	Recombinant Ribonuclease Inhibitor (タカラ, 2313A)	Recombinant Ribonuclease Inhibitor (タカラ, 2313A)	Recombinant Ribonuclease Inhibitor (タカラ, 2313A)
cdNTPs mix	10mM dNTPs mix ( life technologies, 18427-013)	Deoxynucleotide (dNTP) Solution Mix (New England Biolabs, N0447S)	dNTPs mix (Roche#11814362001)	10mM dNTPs mix ( life technologies, 18427-013)	2.5mM dNTPs mix (タカラ, SD0304)
プライマー	ランダムプライマー ( invitrogen, N8080127)	ランダムプライマー ( life technologies, 48190-011)	ランダムプライマー (Roche#11034731001)	ランダムプライマー ( life technologies, 48190-011)	ランダムプライマー (タカラ, 3801)
装置	Applied Biosystems® GeneAmp® PCR System 9700	BT-23 (ヤマト科学株式会社)	ABI2720	TakaRa PCR Thermal Cycler Dice TP600 (タカラバイオ)	Astec PC-805
マスターミックス	Taq Man Universal Master Mix	LightCycler480 Probes Master (Roche Diagnostics)	Taq Man Universal Master Mix	Taq Man Universal Master Mix	Taq Man Universal Master Mix
リアルタイムPCR	COG2F ALPF COG2R RINGZAL-TP リアルタイムPCR装置	FASMAC SIGMA genosys 日本遺伝子研究所 SIGMA genosys Thermo Scientific LightCycler480 (Roche Diagnostics)	Taq Man Universal Master Mix SIGMA Genosys フナコ SIGMA Genosys eurofins 7500(life technologies)	Taq Man Universal Master Mix フアスマック フアスマック フアスマック life technologies 7900(life technologies)	Fasmac Fasmac Fasmac Applied Biosystems 7900(life technologies)

色つきのセルは各検査機関で変更した内容を示す

表2-2 各検査機関における検査方法の詳細(2/2)

	機関F	機関G	機関H	機関J
RNA抽出	RNA抽出キット QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN, 52906)	QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN, 52904)	QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN, 52904)	QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN, 52904)
Dnase処理	Dnase Recombinant DNase I (タカラ, No. 2270A)	Recombinant DNase I (タカラ, No. 2270A)	Recombinant DNase I (タカラ, No. 2270A)	Dnase I Amplificationgrade (invitrogen 18068015)
	Buffer 5 x First-Strand Buffer: Super Script II RNase H- Reverse Transcriptase (life technologies, 18064-01)に添付	5 x First-Strand Buffer: Super Script II RNase H- Reverse Transcriptase (life technologies, 18064-01)に添付	5 x First-Strand Buffer: Super Script II RNase H- Reverse Transcriptase (life technologies, 18064-01)に添付	5 x First-Strand Buffer: Super Script II RNase H- Reverse Transcriptase (life technologies, 18064-01)に添付
	装置 2720 Thermal Cycler (Applied Biosystems)	Mastercycler gradient (eppendorf)	ASTEC PC 310	Applied Biosystems 2720サーマルサイクラー
逆転写反応	逆転写酵素 Super Script II RNase H- Reverse Transcriptase ( life technologies, 18064-014); 反応バッファ 反応用バッファ(5 x SSII Buffer)および100mM DTT RNaseインヒビター Recombinant Ribonuclease Inhibitor (タカラ, 2313A) dNTPs mix ( life technologies, 18427-013) プライマー Random 6mers (タカラ, RR037A) 装置 2720 Thermal Cycler (Applied Biosystems)	Super Script II RNase H- Reverse Transcriptase ( life technologies, 18064-014); 反応用バッファ(5 x SSII Buffer)および100mM DTT Recombinant Ribonuclease Inhibitor (タカラ, 2313A) 10mM dNTPs mix ( life technologies, 18427-013) Random 6mers (タカラ, RR037A) Mastercycler gradient (eppendorf)	Super Script II RNase H- Reverse Transcriptase ( life technologies, 18064-014); 反応用バッファ(5 x SSII Buffer)および100mM DTT Recombinant Ribonuclease Inhibitor (タカラ, 2313A) 10mM dNTPs mix ( life technologies, 18427-013) Random 6mers (タカラ, RR037A) ASTEC PC 310	Super Script II RNase H- Reverse Transcriptase ( life technologies, 18064-014); 反応用バッファ(5 x SSII Buffer)および100mM DTT RNaseOUT Recombinant Ribonuclease Inhibitor (invitrogen, 10777019) 10mM dNTPs mix ( life technologies, 18427-013) Random 6mers (タカラ, RR037A) Applied Biosystems 2720サーマルサイクラー
リアルタイムPCR	マスターミックス COG2F ALPF COG2R フローブ(合成受託会社) リアルタイムPCR装置	Taq Man Universal Master Mix Applied Biosystems Applied Biosystems Applied Biosystems Applied Biosystems 7500(life technologies)	Taq Man Universal Master Mix life technologies japan life technologies japan life technologies japan life technologies japan 7500(life technologies)	Taq Man Universal Master Mix invitrogen invitrogen invitrogen invitrogen Quant Studio 7 Flex (life technologies)

色つきのセルは各検査機関で変更した内容を示す



パターン	測定	10 <sup>3</sup> ~	10 <sup>1</sup> ~
A	No.1	0.999387	0.99971
	No.2	0.998285	0.998847
B	No.1	0.995524	0.997554
	No.2	0.996831	0.998598
C	No.1	0.999729	0.999222
	No.2	0.999807	0.999873

図1 検量線のパターンと相関係数

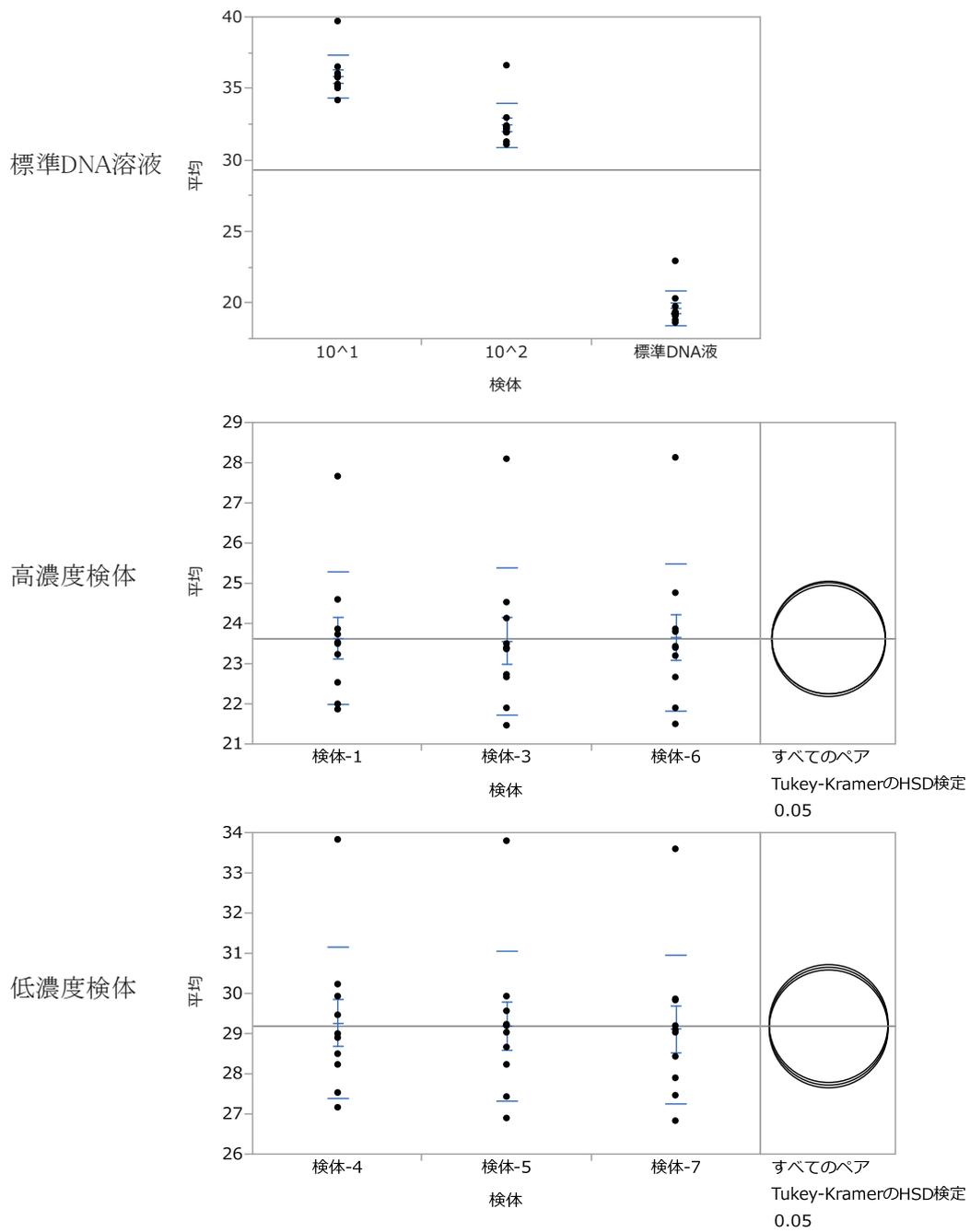


図2 調査試料におけるCt値  
高濃度検体および低濃度検体における平均値の比較はTukey-KramerのHSD検定により行った。

表3 ノロウイルス検査の外部精度管理調査結果の概要（実測値：実数解析）

検体		平均値±標準偏差	変動係数
高濃度検体	検体-1	40571.896±19982.381	0.492518
	検体-3	43141.390±22365.800	0.518430
	検体-6	41130.337±21827.725	0.530696
低濃度検体	検体-4	1033.157±650.279	0.6294.9
	検体-5	1072.102±711.328	0.663489
	検体-7	1155.274±801.132	0.693456
標準DNA溶液	10 <sup>1</sup> コピー	11.619±3.660	0.314965
	10 <sup>2</sup> コピー	102.244±26.755	0.261680
	未知試料	513577.59±102564.15	0.199705

平均値、標準偏差の単位：コピー

表4 ノロウイルス検査の外部精度管理調査結果の概要（実測値：対数解析）

検体		平均値±標準偏差	変動係数
高濃度検体	検体-1	4.549849±0.235246	0.051704
	検体-3	4.570021±0.255461	0.055899
	検体-6	4.544060±0.257096	0.056578
低濃度検体	検体-4	2.926178±0.277427	0.094809
	検体-5	2.947285±0.259804	0.088150
	検体-7	2.969404±0.280289	0.094392
標準DNA溶液	10 <sup>1</sup> コピー	1.037870±0.136416	0.131439
	10 <sup>2</sup> コピー	1.997580±0.089564	0.044836
	未知試料	5.702405±0.075040	0.013159

平均値、標準偏差の単位：log（コピー）

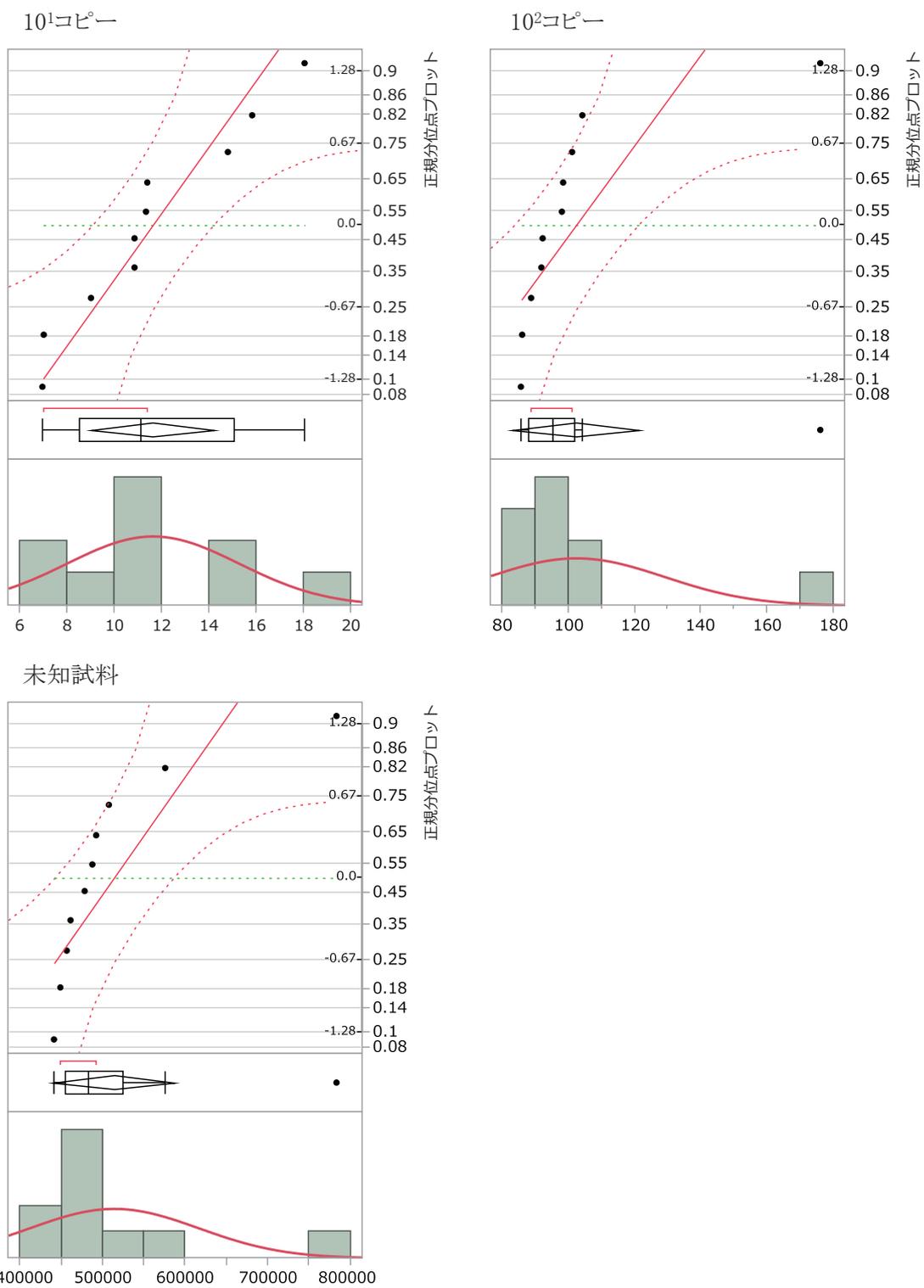


図3 標準DNA溶液におけるヒストグラムと正規確率プロット(実測値、実数解析)

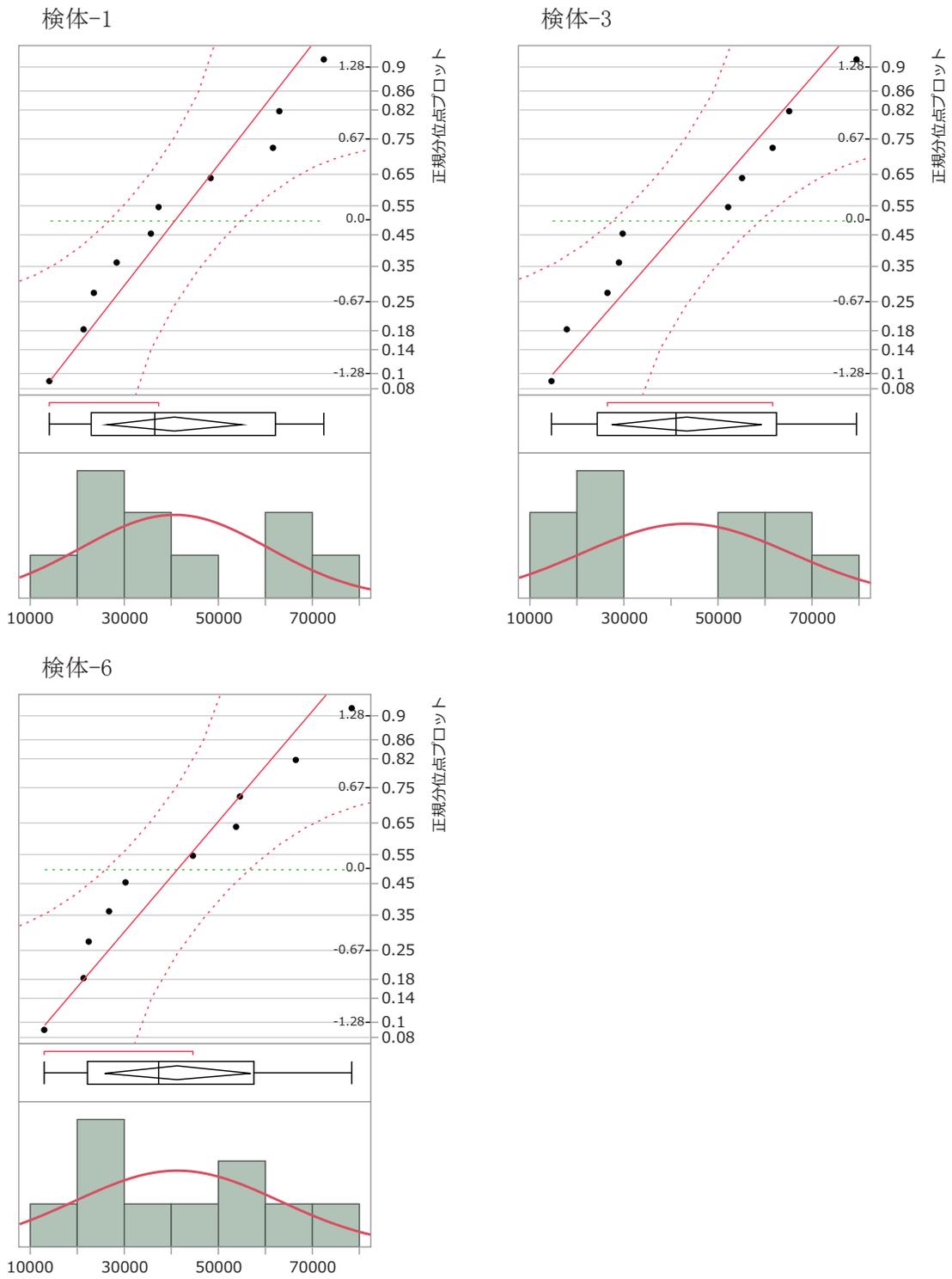


図4 高濃度検体におけるヒストグラムと正規確率プロット(実測値、実数解析)

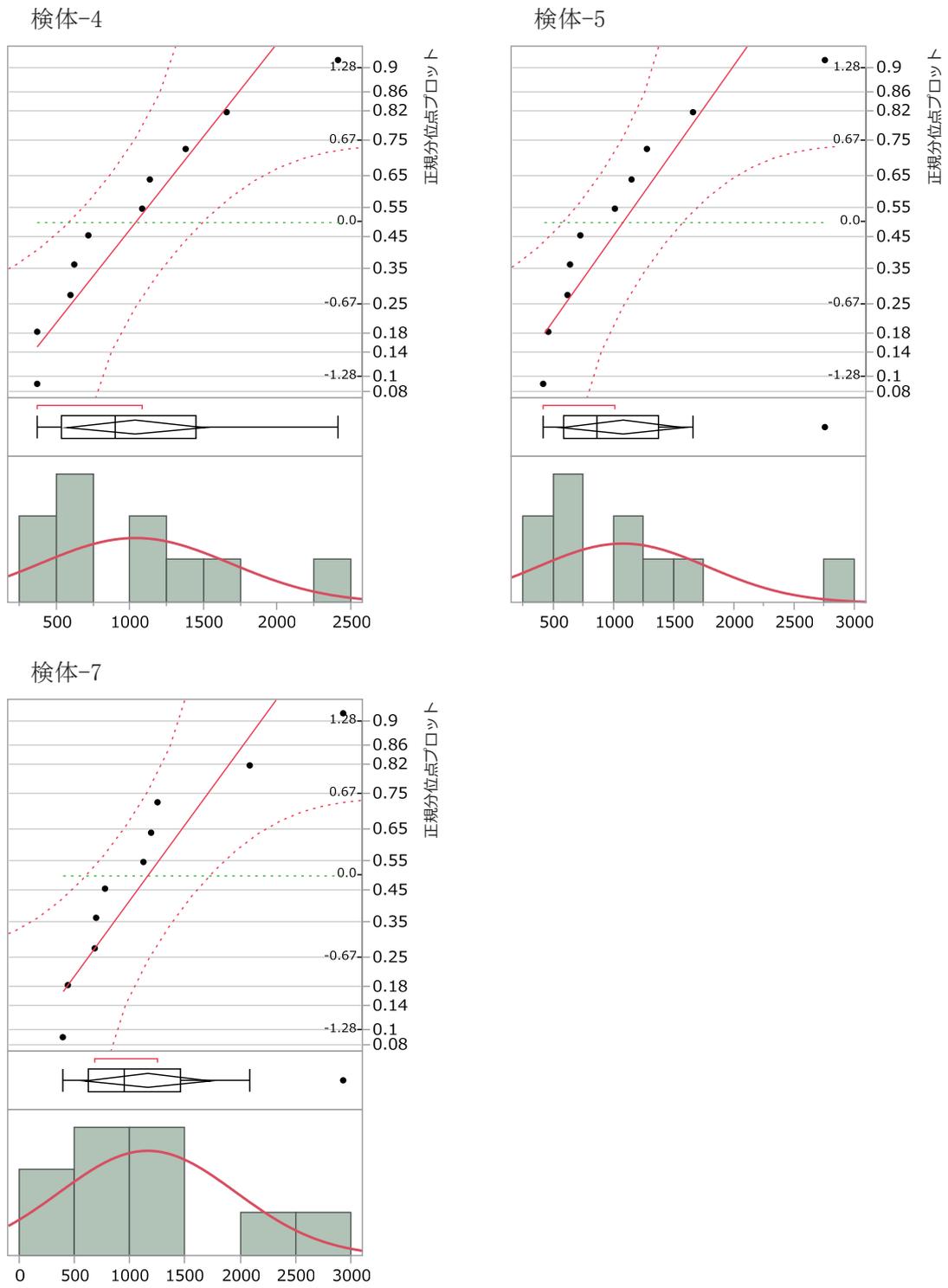


図5 低濃度検体におけるヒストグラムと正規確率プロット(実測値、実数解析)

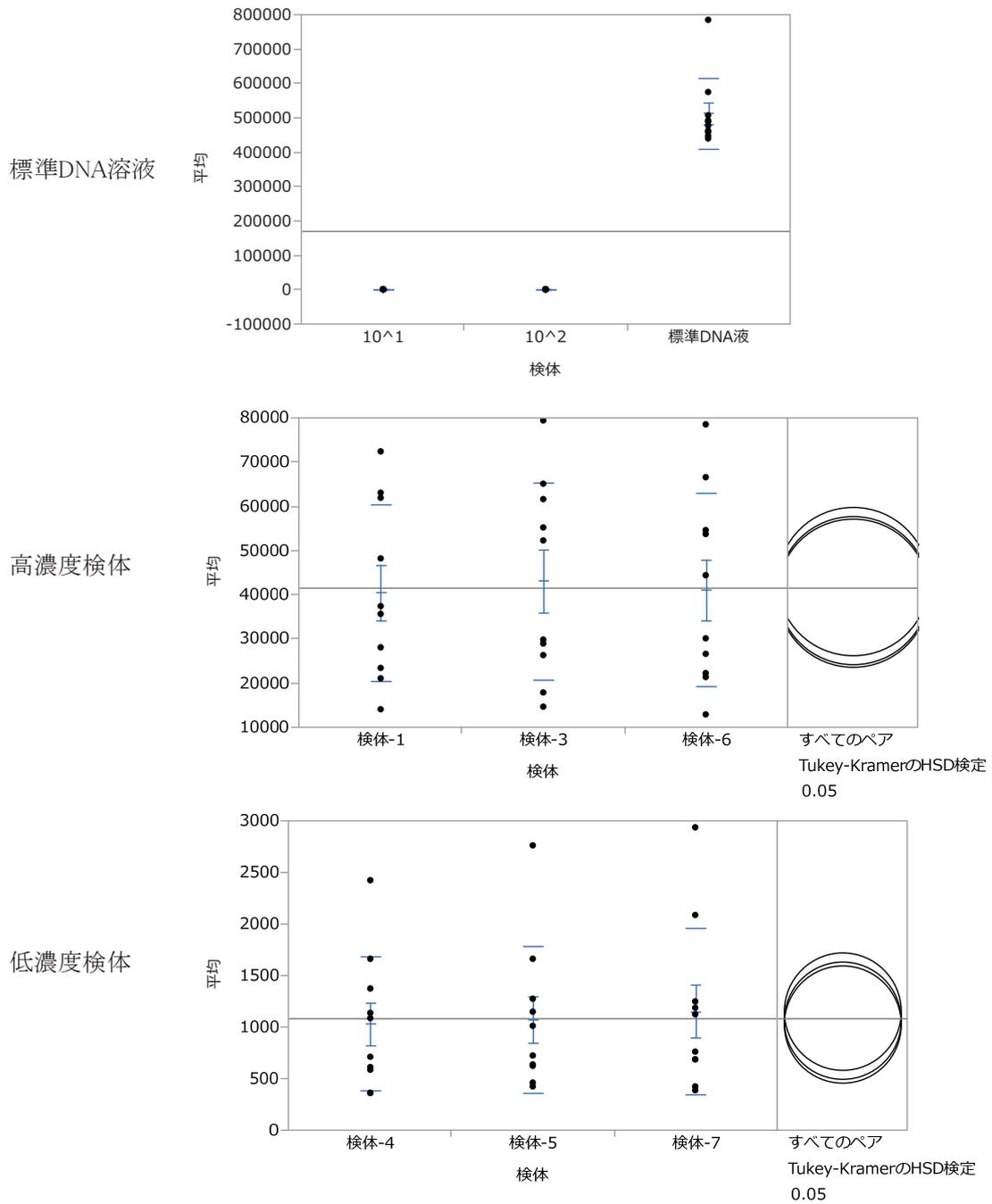
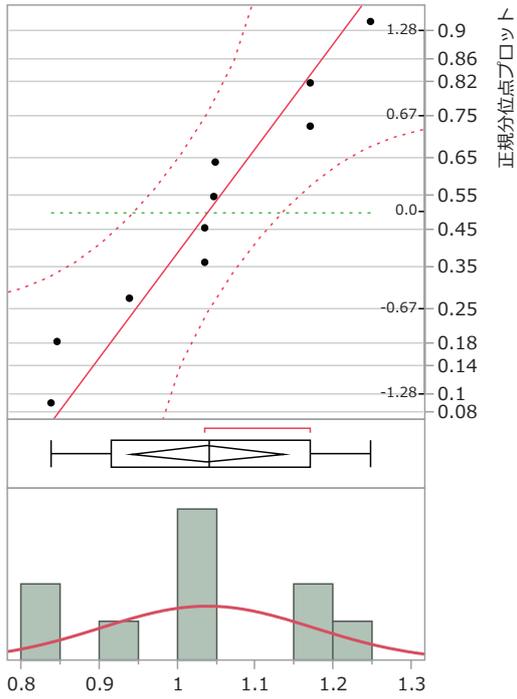
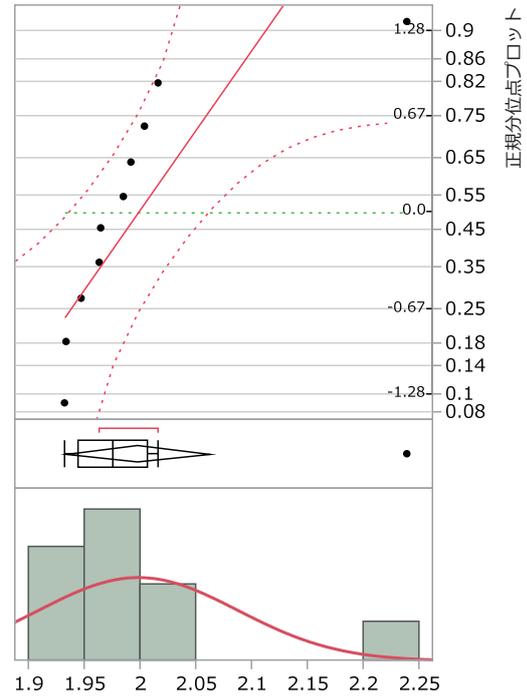


図6 調査試料における実測値(実測値、実数解析)  
 高濃度検体および低濃度検体における平均値の比較はTukey-KramerのHSD検定により行った。

10<sup>1</sup>コピー



10<sup>2</sup>コピー



未知試料

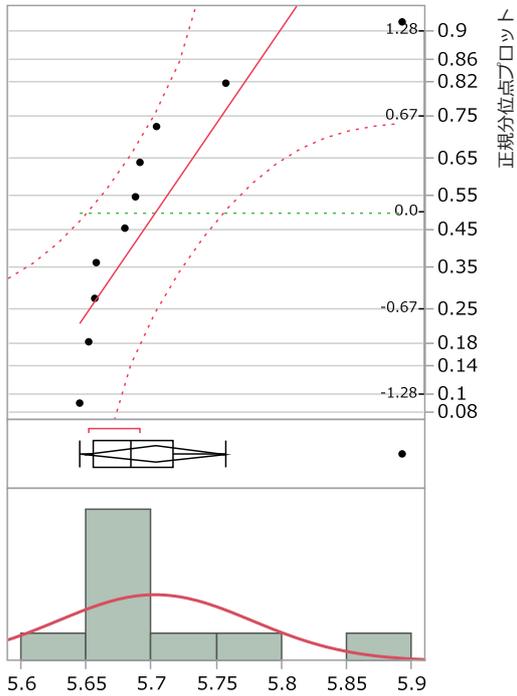
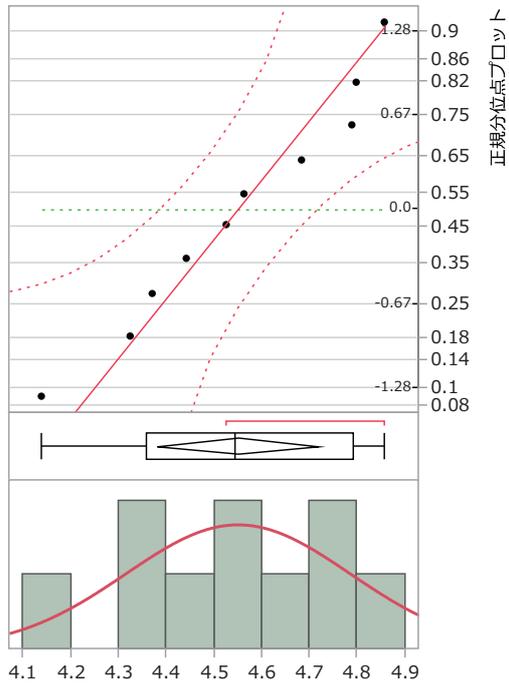
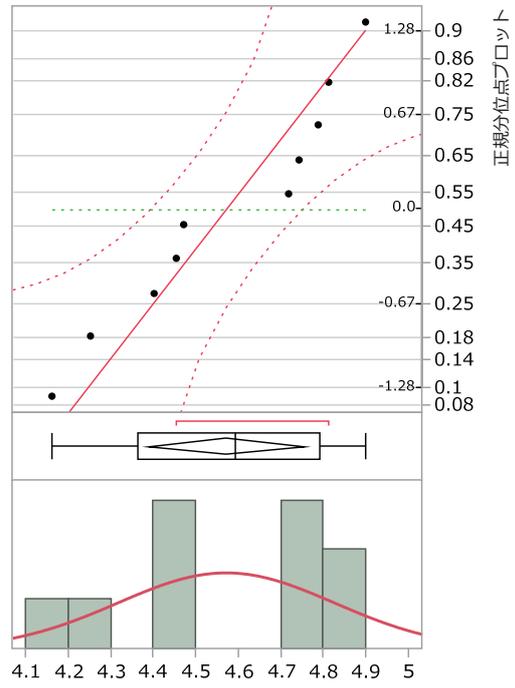


図7 標準DNA溶液におけるヒストグラムと正規確率プロット(実測値、対数解析)

検体-1



検体-3



検体-6

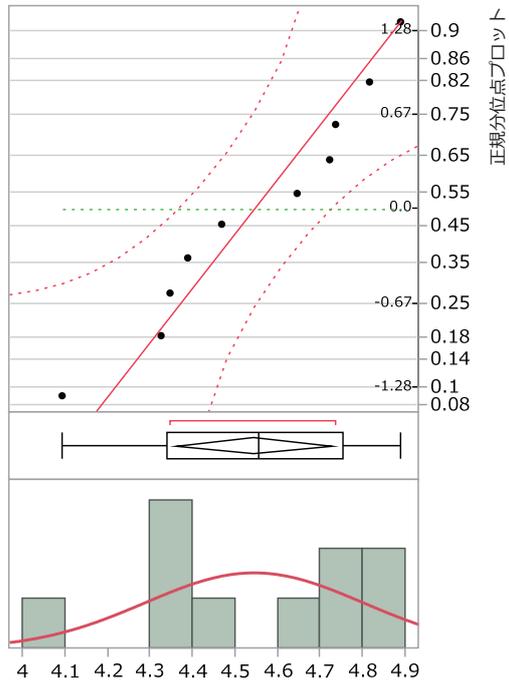
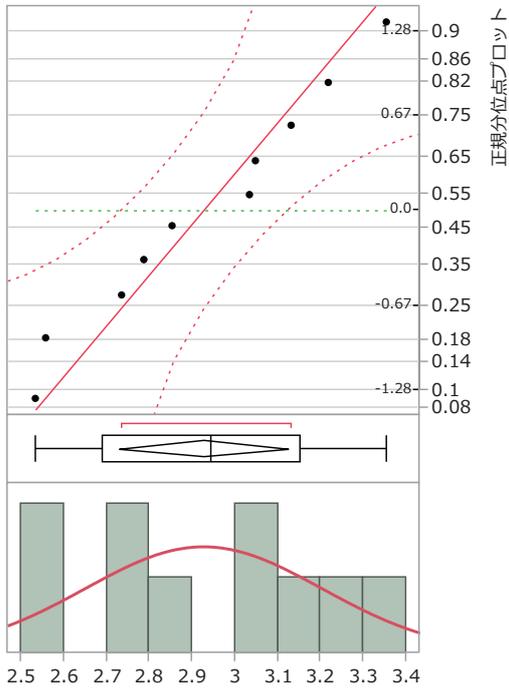
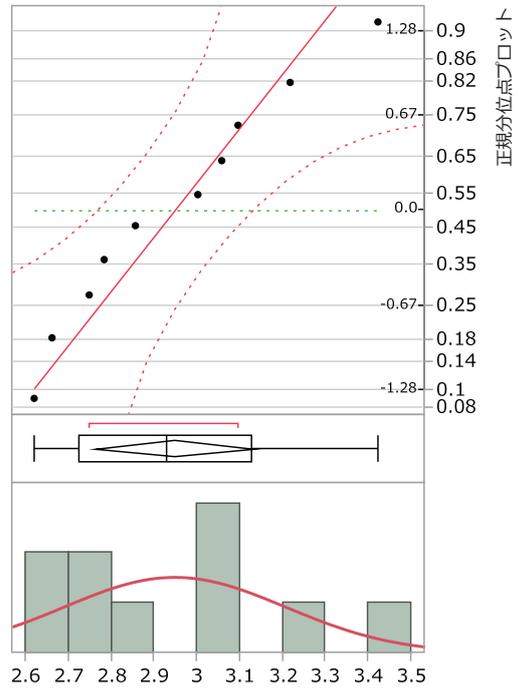


図8 高濃度検体におけるヒストグラムと正規確率プロット(実測値、対数解析)

検体-4



検体-5



検体-7

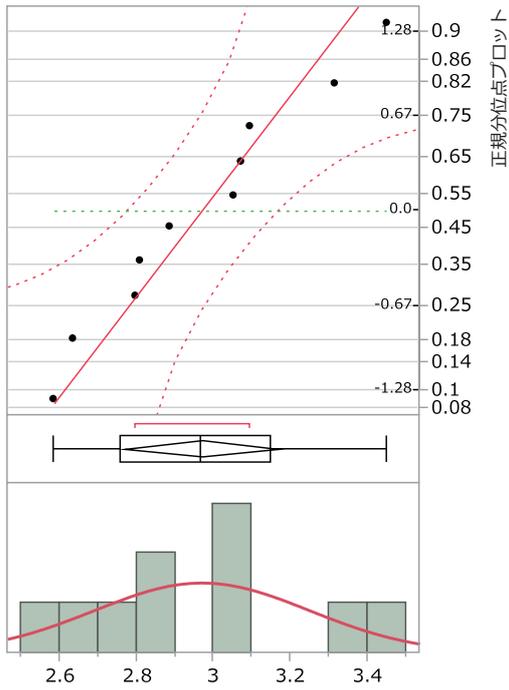


図9 低濃度検体におけるヒストグラムと正規確率プロット(実測値、実数解析)

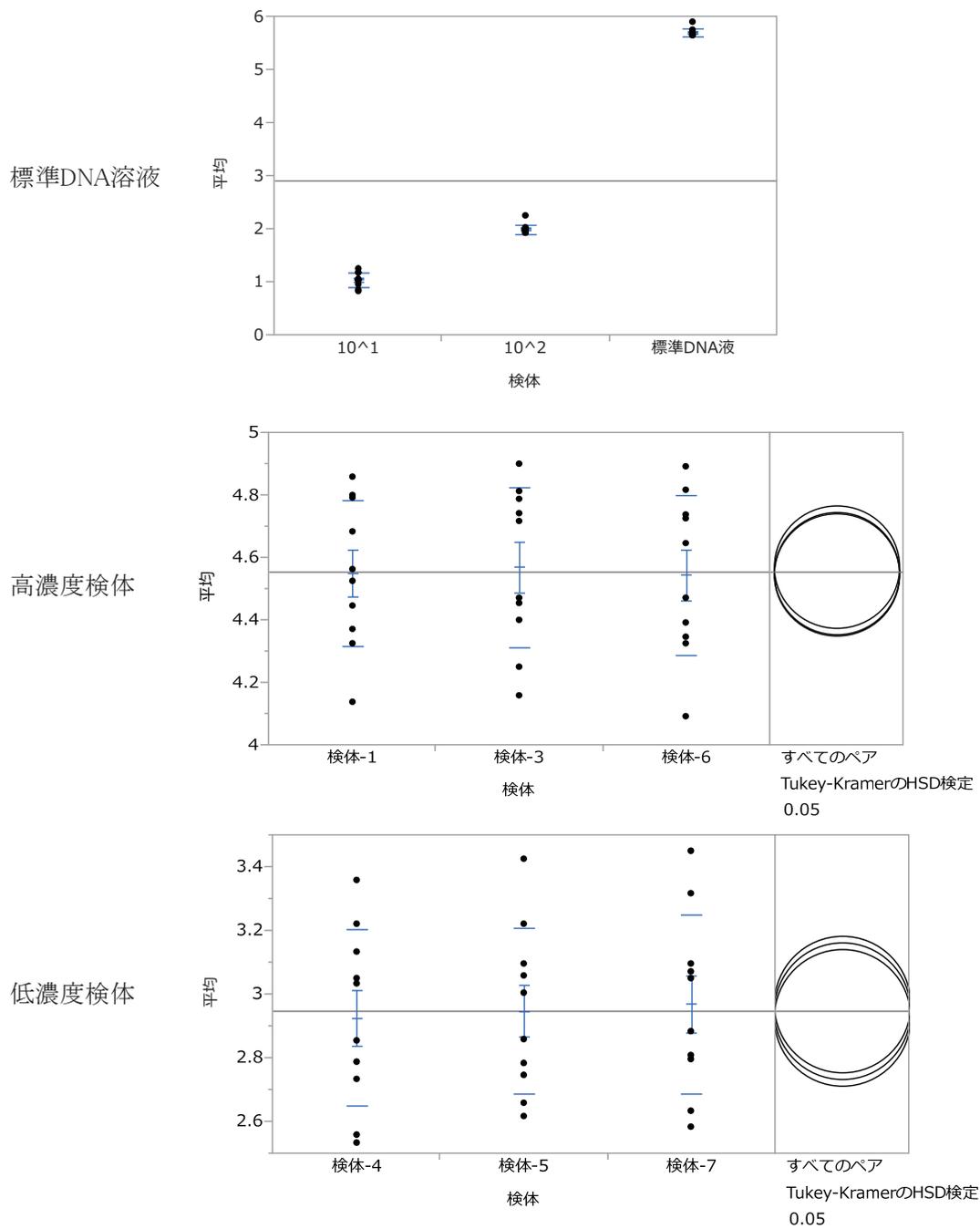


図10 調査試料における実測値(実測値、対数解析)  
高濃度検体および低濃度検体における平均値の比較はTukey-KramerのHSD検定により行った。

表5 ノロウイルス検査の外部精度管理調査結果の概要（換算値：実数解析）

検体		平均値±標準偏差	変動係数
高濃度検体	検体-1	48686275±23978857	0.492518
	検体-3	51769669±26838958	0.518430
	検体-6	49356405±26193271	0.530696
低濃度検体	検体-4	1239788.6±780334.2	0.629409
	検体-5	1286523.0±853593.6	0.663489
	検体-7	1386328.8±961358.1	0.693456

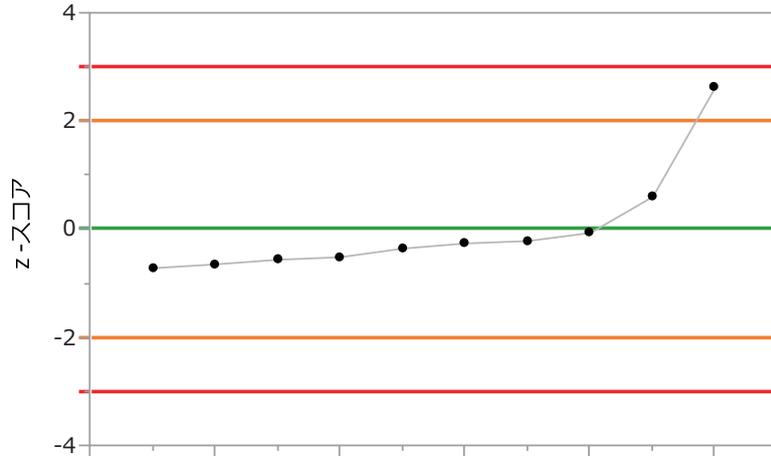
平均値、標準偏差の単位：コピー/mL

表6 ノロウイルス検査の外部精度管理調査結果の概要（換算値：対数解析）

検体		平均値±標準偏差	変動係数
高濃度検体	検体-1	7.629031±0.235246	0.030836
	検体-3	7.649203±0.255461	0.033397
	検体-6	7.623241±0.257096	0.033725
低濃度検体	検体-4	6.005359±0.277427	0.046197
	検体-5	6.026466±0.259804	0.043111
	検体-7	6.048585±0.280289	0.046340

平均値、標準偏差の単位：log（コピー）/mL

1) Z-スコア



2) Xbar-R管理図を参考とした評価

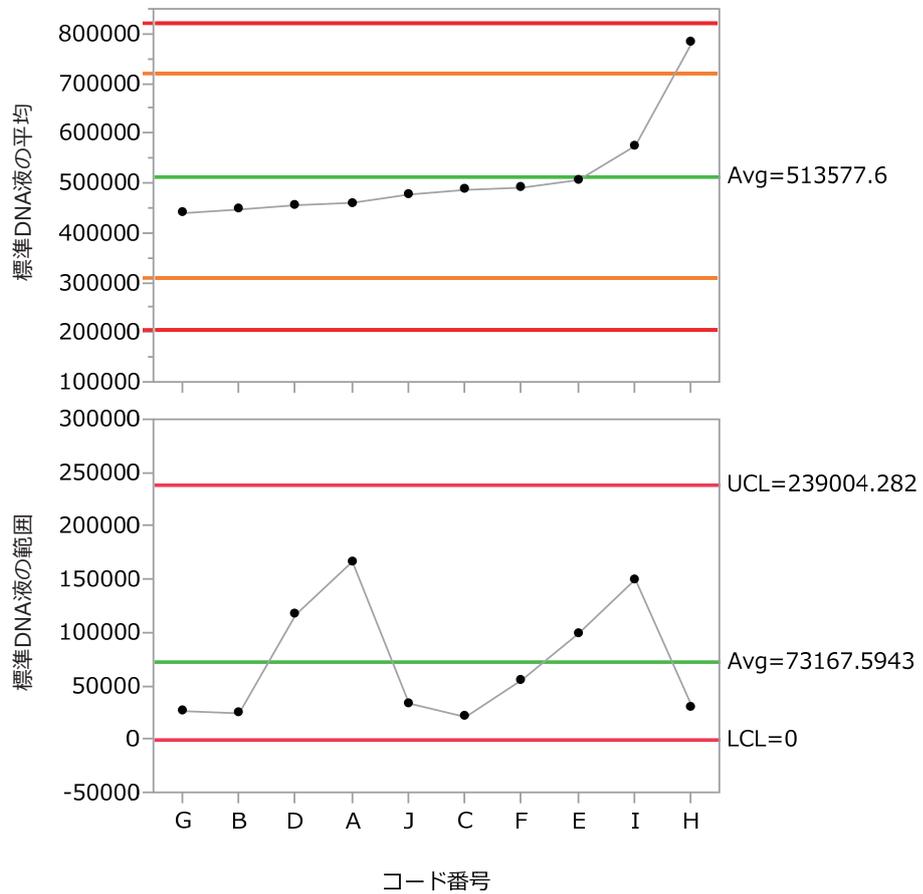
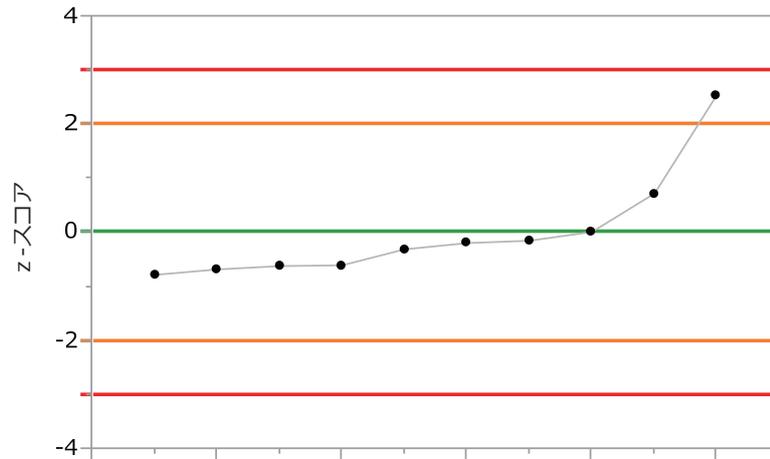


図11 標準DNA溶液(未知試料)における参加機関の評価(実測値、実数解析)  
 Xbar-R管理図を参考とした評価では、管理限界線の値を|Z-スコア|=2および3とした。

1) Z-スコア



2) Xbar-R管理図を参考とした評価

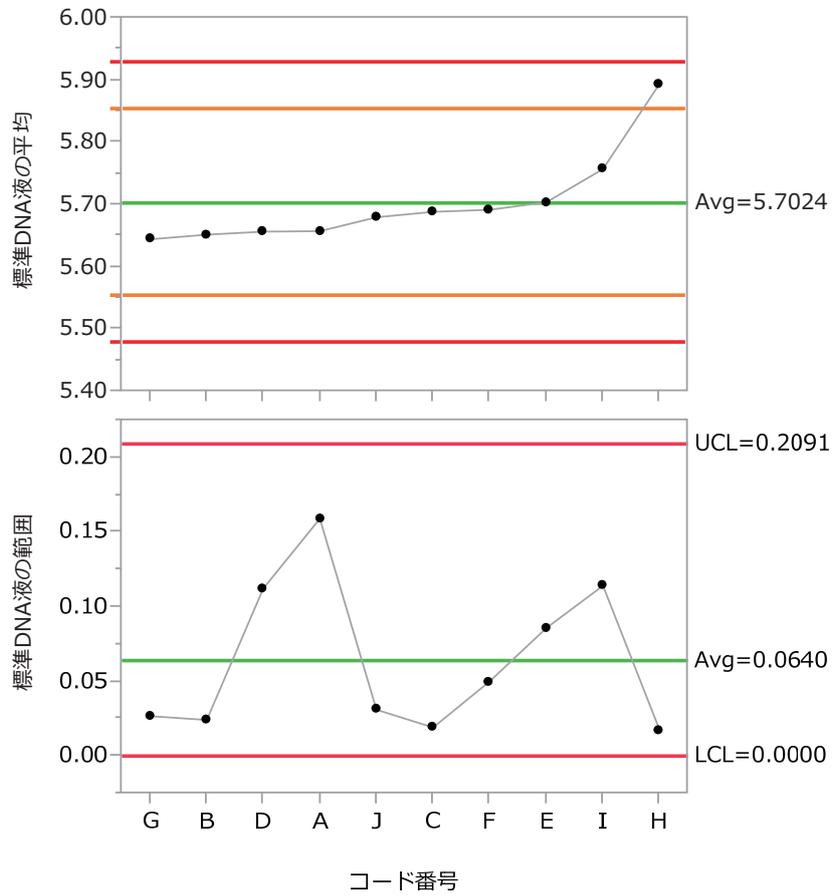
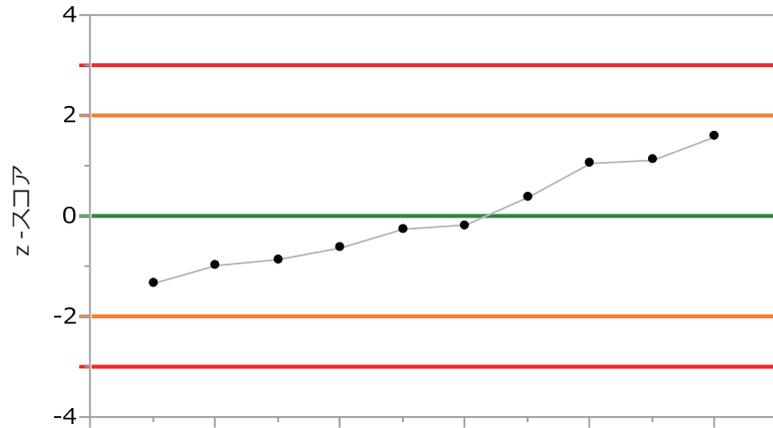


図12 標準DNA溶液(未知試料)における参加機関の評価(実測値、対数解析)  
 Xbar-R管理図を参考とした評価では、管理限界線の値を|z-スコア|=2および3とした。

1) Z-スコア



2) Xbar-R管理図を参考とした評価

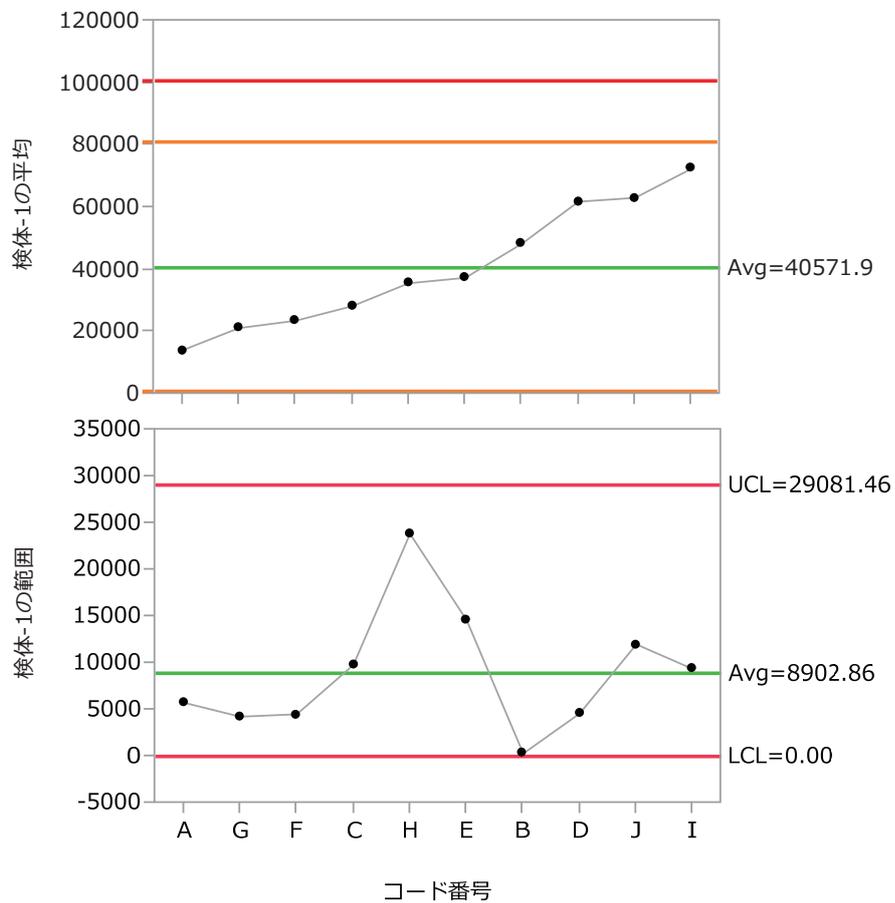
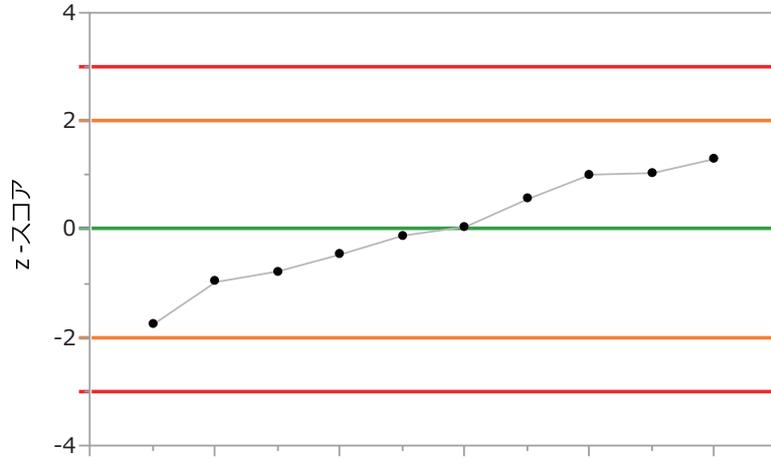


図13 検体-1における参加機関の評価(実測値、実数解析)

Xbar-R管理図を参考とした評価では、管理限界線の値を|z-スコア|=2および3とした。

1) Z-スコア



2) Xbar-R管理図を参考とした評価

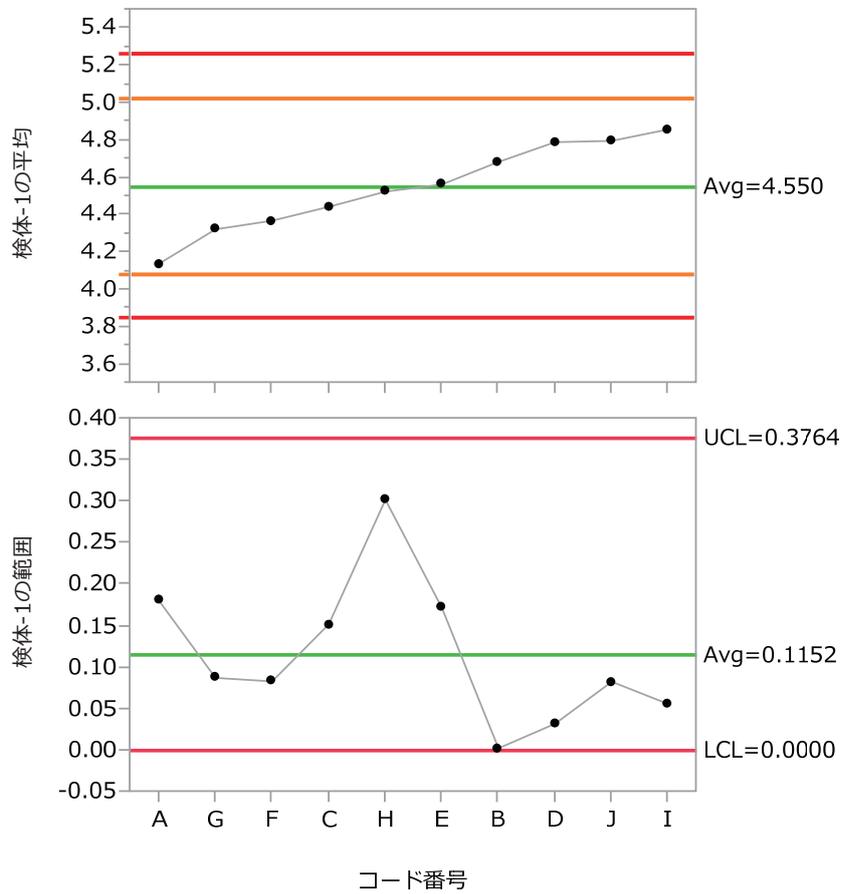
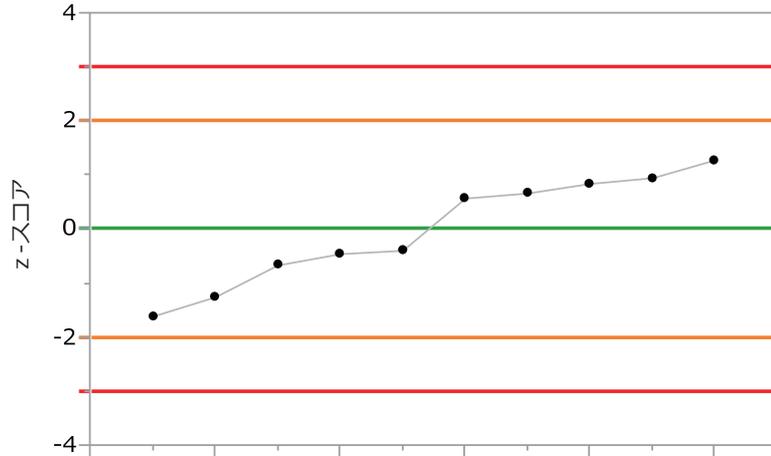


図14 検体-1における参加機関の評価(実測値、対数解析)  
 Xbar-R管理図を参考とした評価では、管理限界線の値を|z-スコア|=2および3とした。

1) Z-スコア



2) Xbar-R管理図を参考とした評価

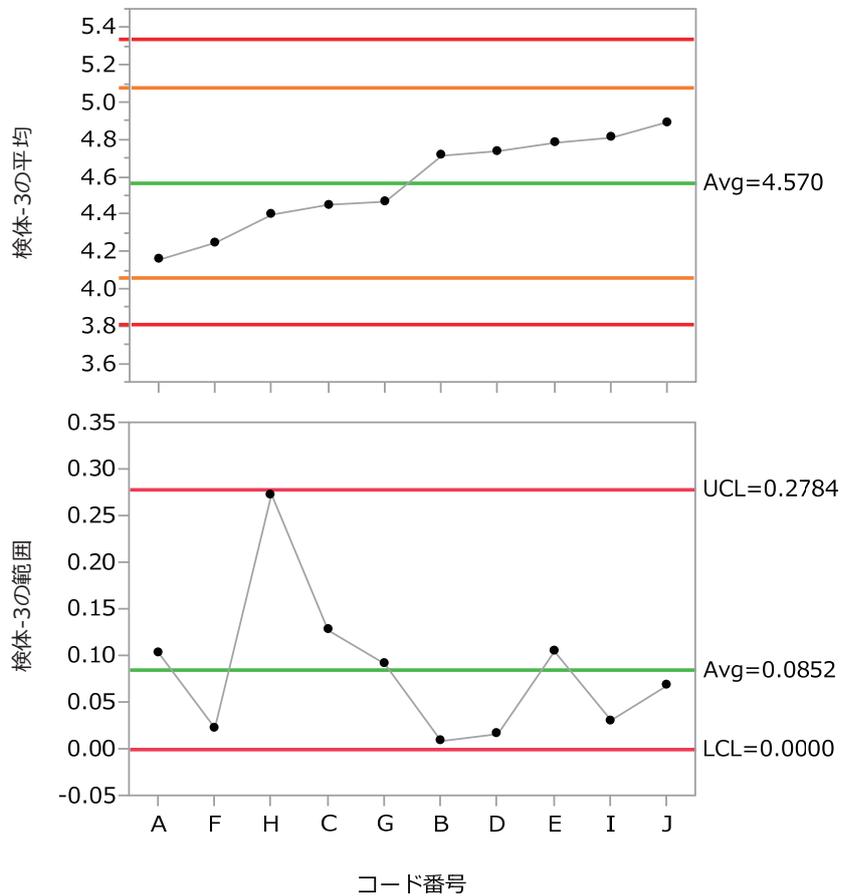
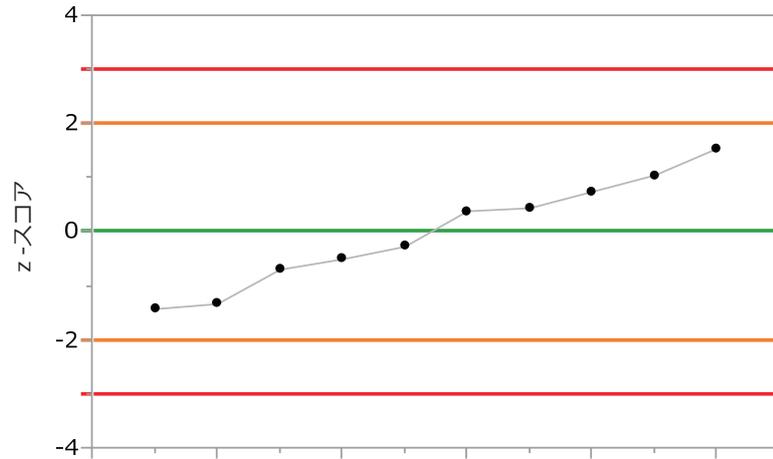


図15 検体-3における参加機関の評価(実測値、対数解析)  
 Xbar-R管理図を参考とした評価では、管理限界線の値を|z-スコア|=2および3とした。

1) Z-スコア



2) Xbar-R管理図を参考とした評価

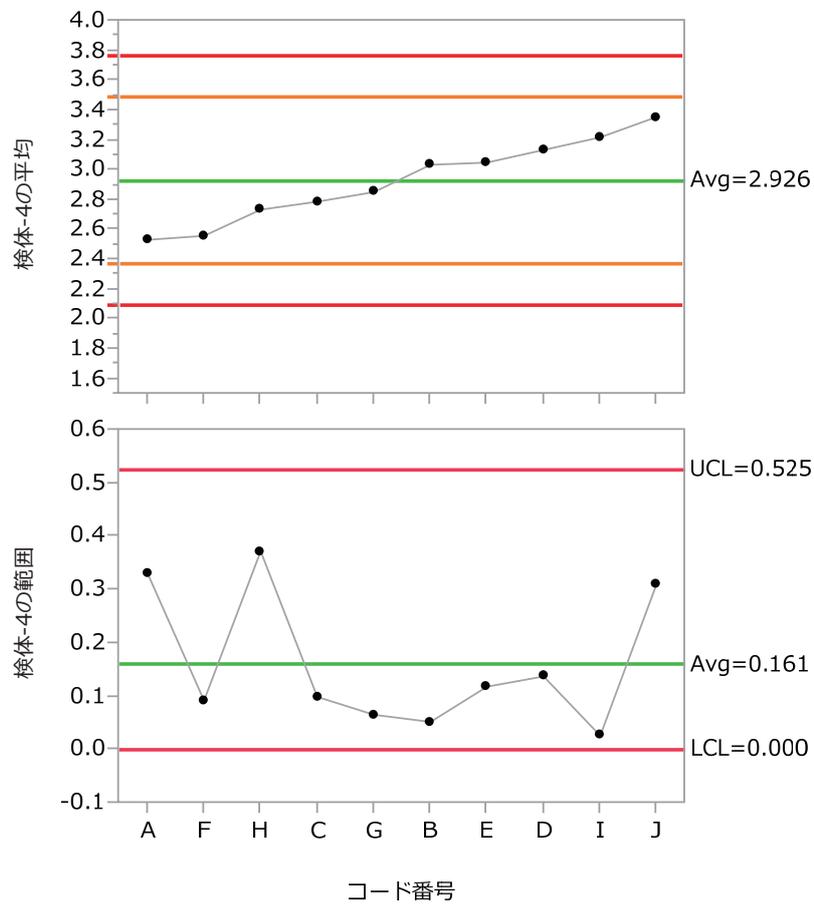
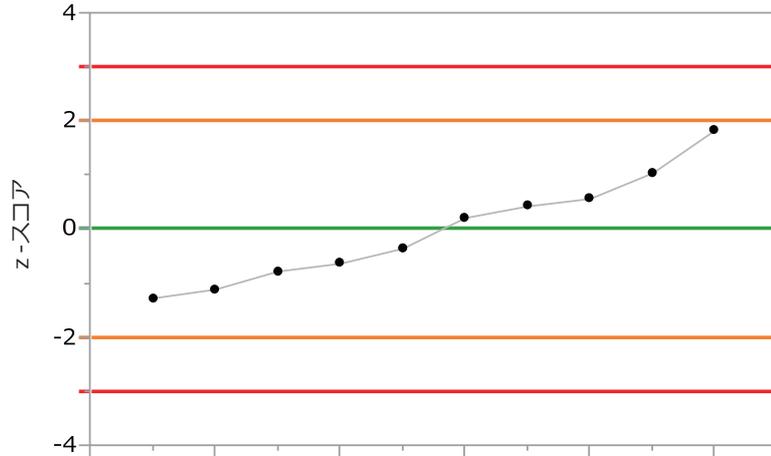


図16 検体-4における参加機関の評価(実測値、対数解析)

Xbar-R管理図を参考とした評価では、管理限界線の値を|z-スコア|=2および3とした。

1) Z-スコア



2) Xbar-R管理図を参考とした評価

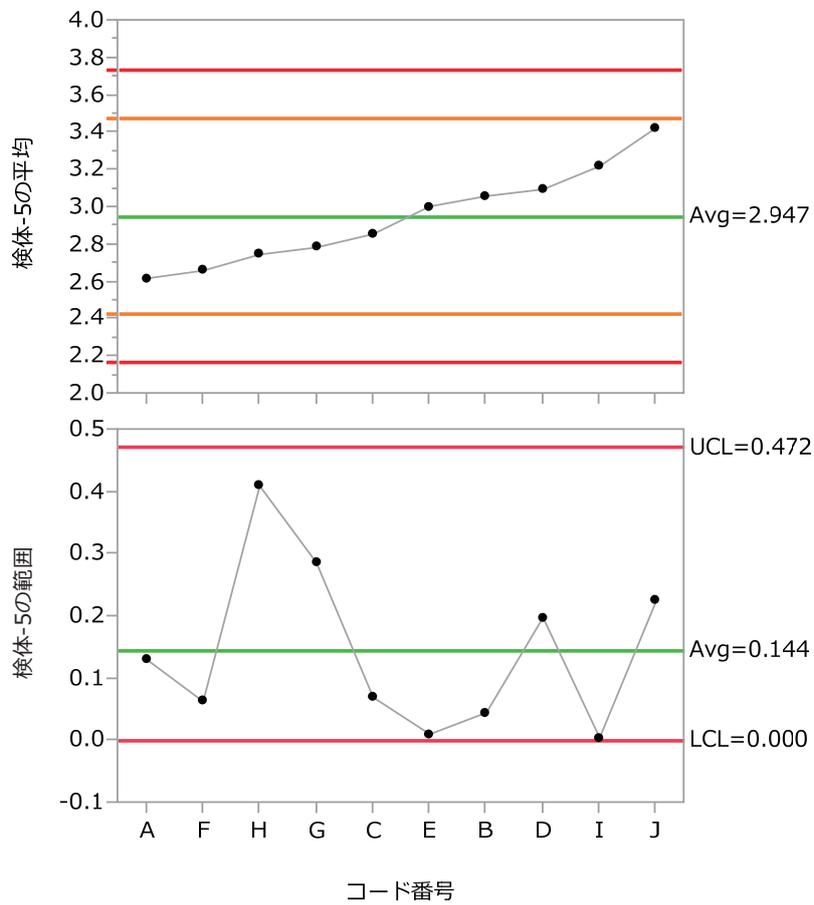
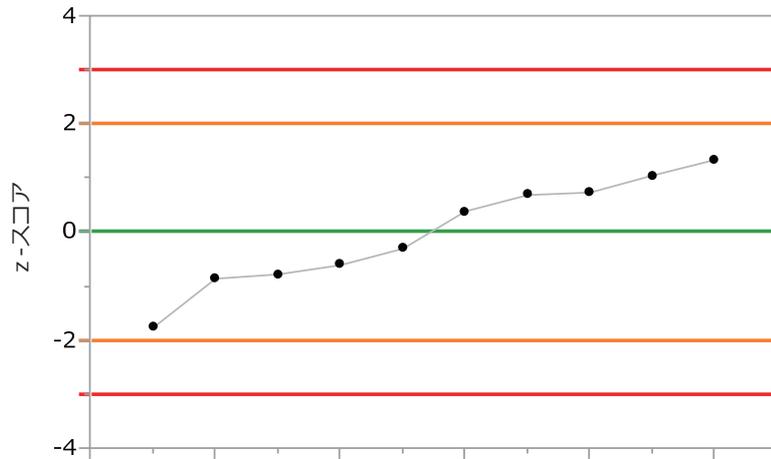


図17 検体-5における参加機関の評価(実測値、対数解析)  
 Xbar-R管理図を参考とした評価では、管理限界線の値を|z-スコア|=2および3とした。

1) Z-スコア



2) Xbar-R管理図を参考とした評価

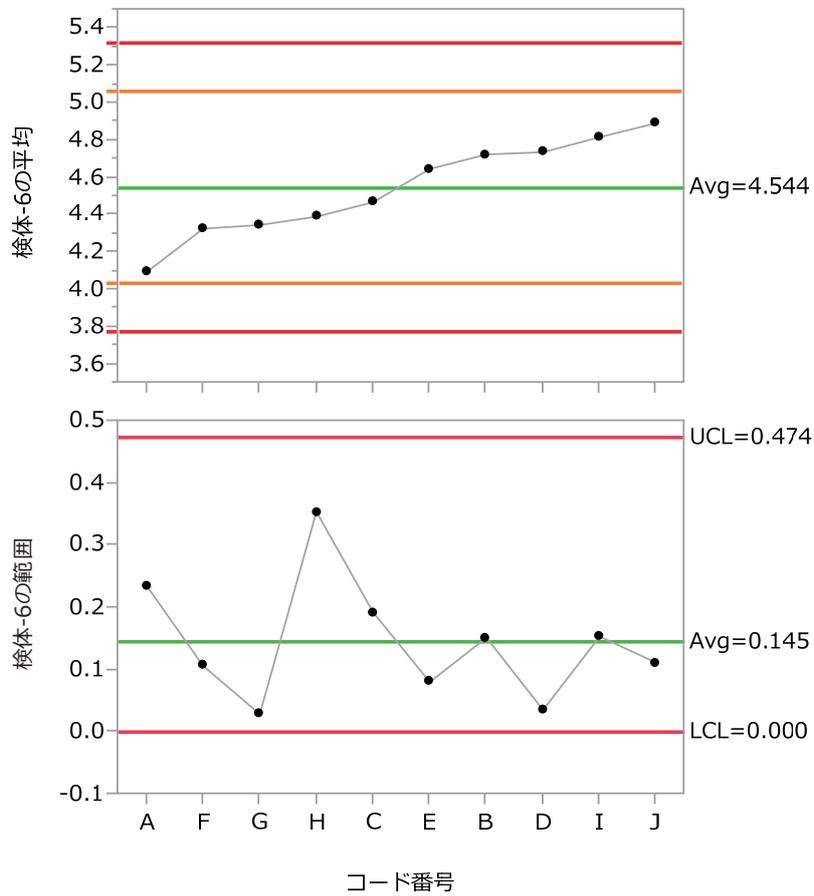
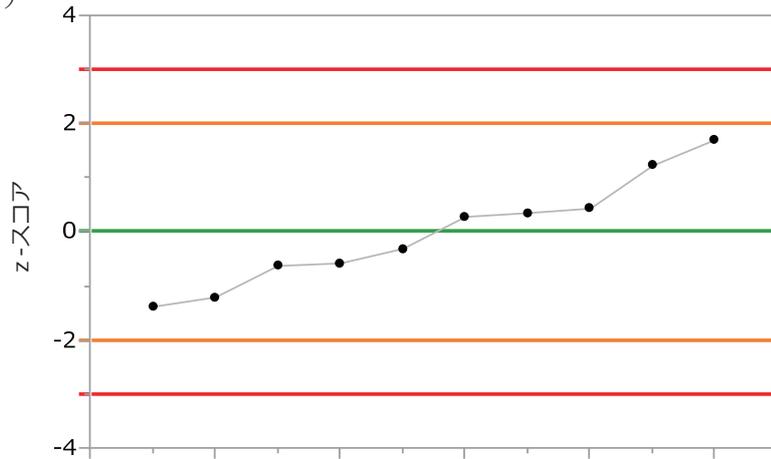


図18 検体-6における参加機関の評価(実測値、対数解析)  
 Xbar-R管理図を参考とした評価では、管理限界線の値を|z-スコア|=2および3とした。

1) Z-スコア



2) Xbar-R管理図を参考とした評価

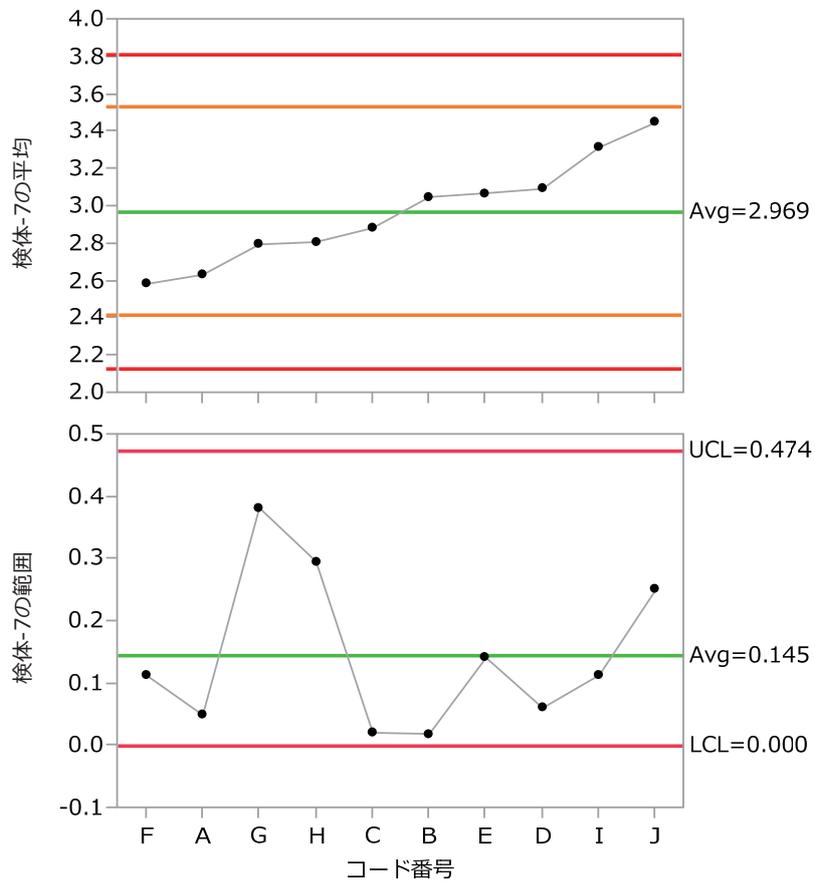
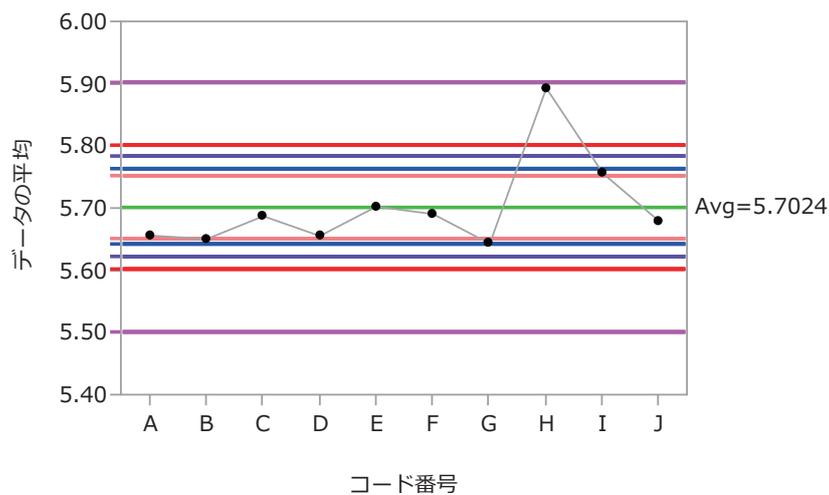


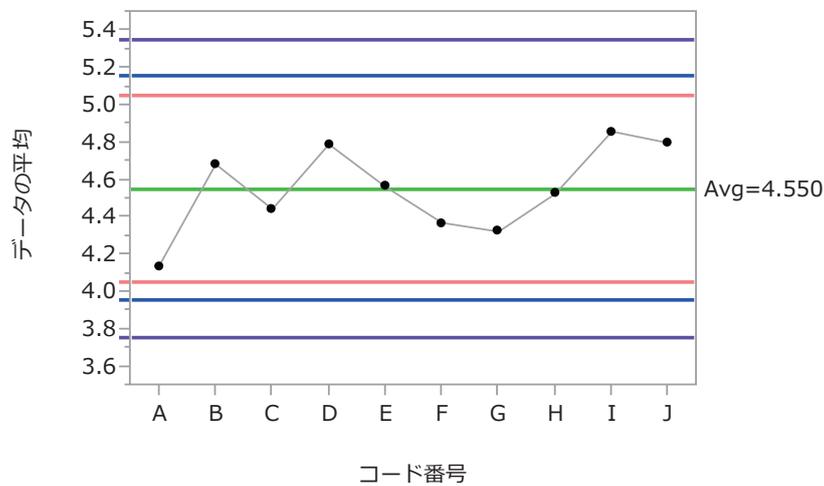
図19 検体-7における参加機関の評価(実測値、対数解析)

Xbar-R管理図を参考とした評価では、管理限界線の値を|z-スコア|=2および3とした。

1) 標準DNA溶液



2) 検体-1



3) 検体-3

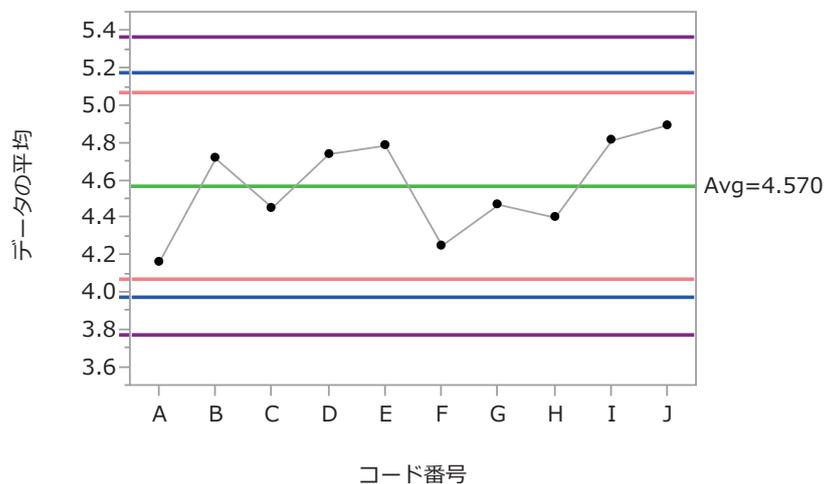
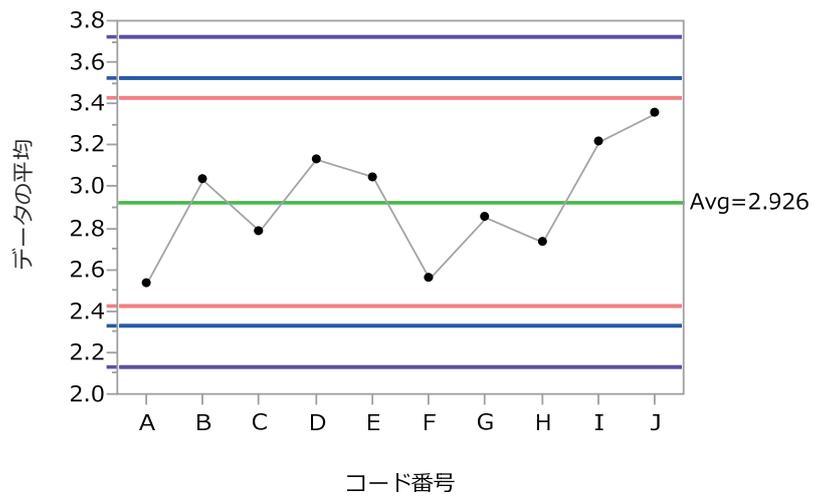
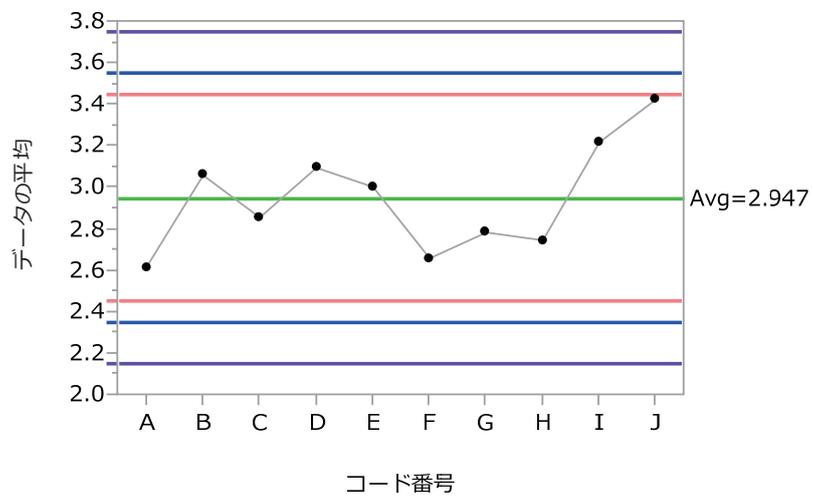


図20 調査試料における一定の標準偏差を用いた参加機関の評価(実測値、対数解析)  
 1)標準偏差を0.025、0.03、0.04、0.05および0.1としたときの2倍の値を管理限界線とした。  
 2)、3)標準偏差を0.25、0.3および0.4としたときの2倍の値を管理限界線とした。

1) 検体-4



2) 検体-5



3) 検体-6

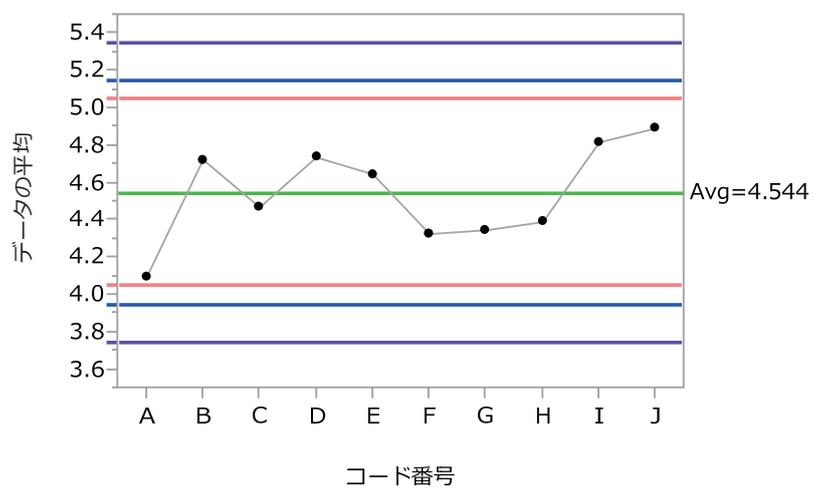


図21 調査試料における一定の標準偏差を用いた参加機関の評価(実測値、対数解析)  
標準偏差を0.25、0.3および0.4としたときの2倍の値を管理限界線とした。

1) 検体-7

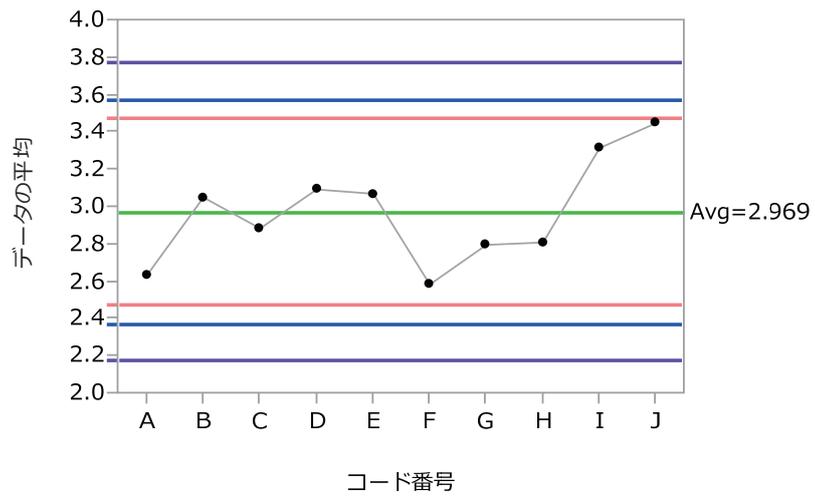


図22 調査試料における一定の標準偏差を用いた参加機関の評価(実測値、対数解析)  
標準偏差を0.25、0.3および0.4としたときの2倍の値を管理限界線とした。