

令和2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）

食品衛生検査施設等の検査の信頼性確保に関する研究

研究分担報告書

外部精度管理調査プログラム用適正試料の改善と開発に関する研究  
－特定原材料検査（乳）技能試験プログラムのパイロットスタディ(3)－

研究代表者	渡辺 卓穂	（一財）食品薬品安全センター秦野研究所	部長
研究分担者	渡辺 卓穂	（一財）食品薬品安全センター秦野研究所	部長
研究協力者	若栗 忍	（一財）食品薬品安全センター秦野研究所	研究員

### 研究要旨

食物アレルギーは国民の食生活の変化に伴って変化しているため、疫学的調査を行い、実際の発症状況に即した行政的な対応が必要とされる。

アレルギー食品として重篤な反応を引き起こす特定原材料7種類については特に、加工食品中に含まれた場合、大きな健康被害へとつながる可能性があることから、表示義務がある。加工食品中の検査法の一つ、スクリーニング法としてのELISA法による定量試験のための外部精度管理調査試料の安定供給は重要である。

本年度はパイロットスタディには乳タンパク質を10 µg/g添加した試料（基材としてベビーフードおよび10%精製水含有こしあん）を用い、定量試験法であるELISA法について外部精度管理調査研究を実施した。参加機関は31機関で、原則として消費者庁から提示されている3キット中任意の2種類で測定を行うこととした。参加機関から得た測定結果は試料ごと、および測定キットごとにまとめ、メジアン・クリーニン（MC）後、ロバスト方式により統計値を算出し、それらの数値を用いて $\sigma$ スコアを算出した。また、 $\bar{X}$ - $R$ 管理図を用いた解析も同時に行った。

その結果、MCにより除外された機関はなく、また、 $\sigma$ スコアの絶対値が3以上となる機関は各解析ごとに0～1機関認められた。 $\bar{X}$ 管理図では管理限界線の範囲を超える機関はなく、 $R$ 管理図では管理限界線を超える機関は各解析ごとに0～1機関認められた。

また、パイロットスタディの試料作製に先立ち、試料作製に関する予備検討を行った。

## A. 研究目的

食物アレルギーは国民の食生活の変化に伴ってそのプロファイルが変化する。そのため、疫学的調査を行い、実際の発症状況に即した行政的な対応が必要とされる。

アレルギー反応を引き起こす食物は多数存在するが、アレルギー患者が多い食品、重篤なアレルギー反応を引き起こす食品に関しては国民の健康への影響が大きいことから、特定原材料として食品表示法に従った適切な表示が義務付けられている。また、表示義務はないものの表示が推奨されている特定原材料に準ずるものについても、多くの企業で加工食品への表示をすることで、消費者の注意喚起を行っている。

特定原材料は7種類、特定原材料に準ずるものについては21種類があげられているが、原材料として使用していない、これらの食品が加工製品中に含まれた場合、健康被害へとつながる。

表示義務のある特定原材料については、加工食品中の検査法として、スクリーニング法としてELISA法による定量試験が、確認試験としてPCR法またはウェスタンブロットティング法による定性試験を行うことが消費者庁次長通知「食品表示基準について」（平成27年3月30日消食表第139号）（以下、通知法）、別添「アレルギーを含む食品の検査方法」に記載されており、その試験に際しては精度管理の一般ガイドラインに準じ、適切に業務管理を実施することが求められている。

スクリーニング試験であるELISA法の精度を管理することは、食品中のアレルギー物質を

適切に検出するために、重要であり、業務管理のツールとしての外部精度管理調査試料の安定供給は重要な課題である。

また、実務に合わせた種々の試料を作製、それらに対する試験結果を解析し、各機関に対してフィードバックを行うことはそれぞれの検査機関における精度管理の一助として有意義である。

本年度は、外部精度管理調査に関するパイロットスタディにおいて、特定原材料は乳を用いて試料の作製を行い、参加機関から回収したデータの解析を行った。

## B. 方法

### 1. 基材

基材にはベビーフードハッピーレシピ白身魚と野菜の雑炊（以下、ベビーフード、キューピー）、ベビーフードハッピーレシピ鮭のポテトクリーム煮（以下ベビーフード鮭、キューピー）、井村屋謹製こしあん（井村屋）、とうもろこしペースト（新進）、ファミリーカップイチゴジャム（以下イチゴジャム、ソントン）の5物質を使用した。

いずれの基材もELISA法を用いて乳が検出されないことを確認した。ELISA法に使用したキットについては「4. ELISAキット」参照。

### 2. 各種添加溶液の調製

#### 1) 添加用乳タンパク質の調製

特定原材料の乳検出用試料作製のため、各種基材を用いて検討を行った。

添加用の乳タンパク質としてスキムミルク（富士フイルム和光純薬工業）および北海道全粉乳（全粉乳、よつ葉乳業）を用いた。

スキムミルクまたは全粉乳を50-mLチューブに0.2 g分取後、0.6% SDS, 0.1 mol/L 亜硫酸ナトリウム含有PBS (pH 7.4) をチューブ当たり20 mL添加し、室温下で1晩振盪した。懸濁液は遠心 (10,000×g, 30 min) 後、上清を0.8 μm フィルターを用いてろ過し、添加用乳タンパク質調製液とした。

## 2) タンパク質量の測定

乳タンパク質調製液のタンパク質量は、2-D Quant Kit (Cytiva)を用いて測定した。得られたタンパク質量から調製液濃度又は添加量を計算し、適当量を各基材に添加した。添加量は総乳タンパク質量相当とした。

## 3. 試料調製

### 1) 添加用乳タンパク質の検討

乳タンパク質としてスキムミルクまたは全粉乳を用い、ベビーフード鮭及びびとうもろこしペーストを基材として検討用の試料を作製した。

添加用乳タンパク質調製液を10 μg/gとなるように添加量を計算後、各基材に加えた後、フードプロセッサー (MK-K58、National) を用いて均質化し、試料を作製した。各試料はそれぞれ約10 gずつ分注し、-20℃で凍結保存した。

### 2) 外部精度管理調査試料の予備検討

外部精度管理調査試料の予備検討として300 g 程度の小スケールで試料を作製し、安定性を確認した。

乳タンパク質としてスキムミルクを用い、基材に特定原材料を含まないとして市販されている、ベビーフードおよび井村屋謹製こしあん (試料作製時には10%の精製水を添加)を用い、前項「1)乳タン

パク質検討用試料の作製」同様に試料を作製した。

### 3) 外部精度管理調査試料の調製

外部精度管理調査試料には、前項で検討済みのベビーフードおよび井村屋謹製こしあんを基材に使用し、これにそれぞれ総乳タンパク量で10 μg/gとなるように添加用乳タンパク質溶液を添加した。

ベビーフードは、ロボ・クープブリスサー5プラス (エフ・エム・アイ) で粒がわからなくなるまで均質化後、添加用乳タンパク質溶液を添加した。井村屋謹製こしあんは10%の精製水を添加、ロボ・クープブリスサー5プラスで均質化したものを基材として (以下こしあん)、添加用乳タンパク質溶液を添加した。

各試料は約10 gずつ分注後、-20℃で凍結保存した。調査研究試料は試料1がベビーフード試料、試料2がこしあん試料とした。また、これらの試料について均質性および安定性の確認を行った。

## 4. ELISA法

特定原材料の乳タンパク質検出には、通知法のバリデーション要件を満たすELISAキットを使用した。また、バリデーションを行って位はいないが、森永生科学研究所のβ-ラクトグロブリン検出キットも使用した。

### 1) 乳タンパク質検出用キット

- FASTKITエライザVer. III牛乳 (日本ハム) (以下、日本ハムキット)
- モリナガFASPEK エライザII 牛乳 (カゼイン) (森永生科学研究所) (以下、モリナガ (カゼイン) キット)
- モリナガFASPEK エライザII 牛乳 (β-ラクトグロブリン) (森永生科学

研究所) (以下、モリナガ (BLG) キット)

- アレルゲンアイELISA II牛乳( $\beta$ -ラクトグロブリン)(プリマハム)(以下、プリマハムキット)

## 2) 乳タンパク質検討用試料のELISA試験

「3. 試料調製」「1) 乳タンパク質検討用試料の作製」で作製した4種の試料について、ELISA法により乳タンパク量の測定を行った。測定は、「1) 乳タンパク質検出キット」に記載の4種キットを用い、作製後0か月と6か月に行った。

## 3) 外部精度管理調査試料の予備検討

「3. 試料調製」「2) 外部精度管理調査試料の予備検討」で作製した試料は作製後0か月、1か月、3か月及び6か月に「1) 乳タンパク質検出キット」に記載の4種キットを用い、ELISA法による測定を行い、安定性を確認した。

## 5. 外部精度管理調査試料の均質性および安定性

外部精度管理調査用試料の品質評価として均質性および安定性の確認を行った。

均質性の確認は、試料作製後1ヶ月以内に行った。調査試料の各基材についてそれぞれ $n=10$ でサンプリングし、ELISA法により乳タンパク質濃度の測定を行い、平均値、標準偏差、変動係数を算出した後、均質性を判断した。また、均質性試験の結果を安定性試験の0ヶ月とした。安定性は調査期間後である、試料作製後4か月(調査期間後)に $n=4$ で試料を測定し、0か月の乳タンパク質含有量に対する数値を計算し、安定性をとした。

均質性試験および安定性試験は日本ハ

ムキット、プリマハムキット、モリナガ(カゼイン)キット、およびモリナガ

(BLG) キットの4種類のELISAキットを用いて測定した。使用したキットはすべて使用期限内であり、均質性と安定性で同ロットのものを使用した。

吸光度測定および濃度計算にはマイクロプレートリーダーEL 808IU (Bio-Tek Instruments, Inc.) および計算ソフトウェアDeltaSoft JV Ver. 1.80 (Bio-Tek Instruments, Inc.) を使用した。

## 6. 外部精度管理調査の実施

本年度は調査に参加した31機関へ2020年9月29日に調査試料と実施要領を宅配便(冷凍)にて送付した。

測定には、原則として各機関、日本ハムキット、プリマハムキット、モリナガ(カゼイン)キットのうち、任意の2種類を使用することとした。また、余力がある場合には通知法に未収載であるが、モリナガ(BLG)キットの測定についても依頼した。

測定に際しては原則各機関のSOPに従い、サンプリング数は1試料につき2抽出、ELISA測定は1抽出につき3ウェル併行とした。また、報告書の回収期限は2020年10月30日とした。

## 7. 外部精度管理調査結果の解析

通知法の別添「アレルゲンを含む食品の検査方法」中、別添4「アレルゲンを含む食品の検査方法を評価するガイドライン」の「4. 特定原材料検知法開発者が公表すべき検査方法の性能とその範囲に関する提言」に「免疫化学反応に基づく定量法では、用いる抗体により定量値が異なることが予想される」とある。このこ

とから、参加機関から提出された測定値は、試料別、測定キット別に算出したロバスト平均値を付与値として解析を行った。

データ解析は、まず、メジアン±50%の範囲を超える報告値を除外するメジアン・クリーニング (MC) を行った。次にロバスト方式の統計である、エクセル・マクロによるプログラム [作成：システムサポート、大隅昇] によるHuberの proposal 2の推定方式からロバスト平均値およびロバスト標準偏差を算出した。

統計解析には $\bar{X}$ - $R$ 管理図を代用した方法と $z$ -スコアによる方法を用いた。

$\bar{X}$ - $R$ 管理図を代用した方法では、統計解析システムJMP (ver. 11.0.0、SAS Institute Japan) を用いた。また、 $\bar{X}$ - $R$ 管理図の管理限界線の値はこれまでの結果より [ロバスト平均値±ロバスト平均値の30%] とした。

$z$ -スコアはロバスト平均値およびロバスト標準偏差を用いて算出した。

また、アンケート結果をとりまとめ、検討を加えた。

参加31機関中、モリナガ(カゼイン)キットを使用した機関は30機関、日本ハムキットを使用した機関は31機関、プリマハムキットおよびモリナガ(BLG)キットを使用した機関はそれぞれ1機関であった。したがって、プリマハムキット及びモリナガ(BLG)キットは使用機関数が少なかったことからキットごとの統計解析を行わなかった。

(倫理面への配慮)

添加試料が食材であるため、誤って口

に入ることが無いよう、試料の残余や廃棄物は速やかに焼却処分とした。

外部精度管理調査試料については、検査終了後の調査試料の保管期間および廃棄は、各機関のSOPに従って実施することとした。

## C. D. 研究結果および考察

### 1. 外部精度管理調査のパイロットスタディ

#### 1) 外部精度管理調査試料の均質性

均質性試験の結果を表1に示した。モリナガ(カゼイン)キットと日本ハムキットでは測定値が11~12  $\mu\text{g/g}$ と高値、プリマキットとモリナガ(BLG)キットでは約7  $\mu\text{g/g}$ 程度と低値となった。また、同一キットにおける2試料の結果は、ほぼ同等の数値を示した。また、相対標準偏差は試料1で3.2~4.6%、試料2では3.7~3.8%と、すべて5%以下であり、キット間、試料間ともに大きな差は認められなかった。したがって、試料1、2ともに4種キットのいずれにおいても均質と判断した。

また、作製した試料は4種のいずれのキットを用いても評価可能であると結論した。

測定値が高値を示したモリナガ(カゼイン)キットはカゼインを、日本ハムキットではカゼインを含む複合抗原を標的としており、一方、測定値が低値を示したプリマキットとモリナガ(BLG)キットでは標的抗原がともにBLGであり、高値を示したキットと低値を示したキット間の検出感度の差はキットの抗体によるものと考えられた。

## 2) 外部精度管理調査試料の安定性

安定性は、調査期間後(作製後約4か月)に行った(表2)。均質性試験での結果を100%として安定性を算出したところ、試料1および試料2ではそれぞれ96~103%および97~105%の範囲内であり、両試料とも調査期間中、安定であったと判定した。

## 3) 外部精度管理調査結果(回収データの集計結果)

参加機関の報告値を試料別かつ測定キット別に集計した結果を表3に示した。また、データ分布を図1に示した。モリナガ(カゼイン)キットは30機関が、日本ハムキットは31機関が使用した。プリマハムキットおよびモリナガ(BLG)キットを使用した機関はそれぞれ1機関であったことから統計解析を行わず、参考値として扱うこととした。

試料1の平均値はモリナガ(カゼイン)キットにおいて日本ハムキットよりもやや高い値を示したが、試料2では両キットで、ほぼ同じ値を示した。相対標準偏差はモリナガ(カゼイン)キットで7.80~8.23%、日本ハムキットでは4.97~5.70%となり、日本ハムキットで低い値を示した。

プリマハムキットとモリナガ(BLG)キットは、ともに1データであるが、測定値は試料1および試料2ともに7 µg/g台を示し、当センターにおける品質評価試験の結果同様、モリナガ(カゼイン)キットと日本ハムキットに比べ低値を示した。

## 4) キット別集計結果

### (1) モリナガ(カゼイン)キット

モリナガ(カゼイン)キットを用いて測定した30機関のデータにより算出され

た統計量を表4に示した。また、報告値のヒストグラムおよび正規確率プロットを図2に、試料1および試料2の結果および評価一覧を表5および表6に記載した。

### a) 試料1の解析結果

モリナガ(カゼイン)キットを用いて測定した30機関において、MCで除外された機関はなかった。30機関のロバスト平均±標準偏差は $12.15 \pm 1.00$  µg/g(相対標準偏差8.23%)であった。 $\bar{X}$ 管理図では管理限界線外の機関は認められなかったが、 $R$ 管理図で上部管理限界線を超えた機関は1機関存在した(図3)。

また、 $z$ -スコアの絶対値が3以上の機関は1機関認められたが、 $z$ -スコアの絶対値が2以上、3未満の機関は認められなかった[図5、a)]。

### b) 試料2の解析結果

モリナガ(カゼイン)キットを用いて測定した30機関において、MCで除外された機関はなかった。全機関のロバスト平均値±標準偏差は $11.93 \pm 0.93$  µg/g(相対標準偏差7.80%)であった。 $\bar{X}$ 管理図および $R$ 管理図で上部管理限界線を超えた機関はなかった(図4)。

また、 $z$ -スコアの絶対値が3以上の機関は認められなかったが、 $z$ -スコアの絶対値が2以上、3未満の機関は2機関存在した[図5、b)]。

## (2) 日本ハムキット

日本ハムキットを用いて測定した31機関のデータにより算出された統計量を表7に示した。また、報告値のヒストグラムおよび正規確率プロットを図6に、試料1および試料2の結果および評価一覧を表8および表9に記載した。

#### a) 試料1の解析結果

日本ハムキットを用いて測定した31機関において、MCで除外された機関はなかった。全機関のロバスト平均値±標準偏差は $11.57 \pm 0.66 \mu\text{g/g}$  (相対標準偏差5.70%)であった。 $\bar{X}$ 管理図では管理限界線外の機関は認められなかったが、 $R$ 管理図で上部管理限界線を超えた機関は1機関存在した (図7)。

また、 $z$ -スコアの絶対値が3以上の機関は1機関、 $z$ -スコアの絶対値が2以上、3未満の機関は同じく1機関認められた [図9、a)]。

#### b) 試料2の解析結果

日本ハムキットを用いて測定した31機関において、MCで除外された機関はなかった。全機関のロバスト平均値±標準偏差は $11.66 \pm 0.58 \mu\text{g/g}$  (相対標準偏差4.97%) であった。 $\bar{X}$ 管理図では管理限界線外の機関は認められなかったが、 $R$ 管理図で上部管理限界線を超えた機関は1機関存在した (図8)。

また、 $z$ -スコアの絶対値が3以上の機関は1機関 (機関番号25)、 $z$ -スコアの絶対値が2以上、3未満の機関は3機関認められた [図9、b)]。試料2の相対標準偏差は5.0%未満であり、モリナガ (カゼイン) キットの試料2のそれと比較すると2.5%以上低く、また、機関番号25の値は「ロバスト平均 - (ロバスト平均の) 15.9%」であり、通知法の別添「アレルギーを含む食品の検査方法」中、別添4「アレルギーを含む食品の検査方法を評価するガイドライン」の「4. 特定原材料検知法開発者が公表すべき検査方法の性能とその範囲に関する提言」に記載されている試験室

間バリデーションの基準の室間精度25%よりも明らかに低かった。したがって、当該機関は今回提出された参加機関の測定値が揃っていたために、 $z$ -スコアの絶対値が3以上となった可能性も考えられた。

#### (3) プリマハムキット

プリマハムキットを用いて測定した機関は1機関であったため、統計解析は行わず当該機関の報告値、平均値および濃度の範囲についてのみ記載した (表10)。

#### (4) モリナガ (BLG) キット

モリナガ (BLG) キットを用いて測定した機関は1機関であったため、統計解析は行わず当該機関の報告値、平均値および濃度の範囲についてのみ記載した (表11)。

#### (5) キットのロットと測定値について

今回の外部精度管理調査研究において、モリナガ (カゼイン) キットでは8ロット、日本ハムキットでは3ロットとともに複数のロットが使用されていたことから、ロットと報告値の関連について図10に示した。プリマハムキットおよびモリナガ (BLG) キットのデータはそれぞれ1機関、1ロットであった。

モリナガ (カゼイン) キット [図10、a)] において1機関だけが使用したロットは5ロットあった。今回モリナガ (カゼイン) キットを使用した機関で $z$ -スコアで3以上となったのは1機関の1試料だけで、同機関のもう片方の試料は高値を示しているものの、 $z$ -スコアは3未満であり、また、同じロットを使用した他機関の測定値は他のロットと同じような値を示しており、明確なロット差は認められなかった。

日本ハムキット [図10、b)] について

は全3ロット中1ロットが1機関の使用であった。全体の分布からは明確なロット差は認められなかった。

今回、試料1、試料2ともに相対標準偏差がモリナガ（カゼイン）キットで日本ハムキットよりも高い数値を示したが、これは前者では8ロット、後者では3ロットと使用されたロット数に差があったことが影響した可能性も考えられた。

プリマハムキット [図10、c)] およびモリナガ（BLG）キット [図10、d)] についてはそれぞれデータ提出機関が1機関、使用されたロットは1ロットであった。両キットで使用されたロットは当センターの均質性および安定性測定で使用したものと同一であったことから、参考のためにそれぞれの図に当センターの2データを追加した。どちらのキットにおいても、各試料ごとの測定値は3データでほぼ同じであり、同ロット内で安定した結果が得られた。

#### (6) 検量線について

本調査研究ではキットのロットは指定しておらず、参加機関が任意のロットを使用してデータの提出を行っている。前述の通り、本年度はモリナガ（カゼイン）キット（30機関）および日本ハムキット（31機関）では、それぞれ8ロットおよび3ロットが、プリマハムキットおよびモリナガ（BLG）キットでは各1機関、1ロットが使用された。また、全ての機関はキットの使用期限内に試験を実施していた。

モリナガ（カゼイン）キットおよび日本ハムキットの全検量線を図11および図12に示した。両キットで95%信頼区間から外れた検量線がそれぞれ1機関認められた。

また、プリマハムキットおよびモリナガ（BLG）キットの検量線と使用したロットの情報は、それぞれ図13と表12および図14と表13に示した。両キットを使用した機関は各1機関とデータ数が少なかったため、当センターで同じロットを用いた2試験で得られた検量線をそれぞれの検量線とともに示した。他のキットにおけるロットごとの検量線分布と比較し、このロットでは機関差はないと推察された。

モリナガ（カゼイン）キットと日本ハムキットにおいて本パイロットスタディで使用されたロットの情報とロット別の検量線のグラフはそれぞれ表14と図15、および表15と図16に示した。どちらのキットにおいても検量線に明らかなロット差は認められなかった。

個別のデータでは、モリナガ（カゼイン）キットおよび日本ハムキットにおいて各1機関が参加機関全体の検量線から算出した95%信頼区間から外れていた。

モリナガ（カゼイン）キットで95%信頼区間から外れた機関番号20 [図15、a)] は試料1、試料2ともにZスコアの絶対値が2未満と良好な数値を示したが、参加機関中において試料1は下から2番目、試料2では最低のZスコアを示した。機関番号20が使用したモリナガ（カゼイン）キットのロットは当該機関しか使用しておらず、検量線が高めに出るのがこのロットの特性かどうかは確認できなかった。しかしながら、同機関における日本ハムキットの検量線は、ほぼ総平均に等しかった。また、試料1ではZスコアの絶対値が2未満と良好であったものの、参加機関中では下から2番目の数値であった。これら

のことから、検量線が全体の集団から外れたことはデータに大きな影響を及ぼしてはいないと考えられたが、この機関は恒常的に低値を出しやすい傾向にある可能性が考えられた。

日本ハムキットでは機関番号3が95%信頼区間から下方へ外れた検量線を示した[図16、b]。当該機関が使用したロットは20機関が使用していたが、95%信頼区間から外れたのは同機関だけであった。機関番号3は試料1において $z$ -スコアの絶対値が3以上であり、また、試料2では $z$ -スコアの絶対値は2以上3未満ではあるが、参加機関中では最高の $z$ -スコアを示した。一方、同機関はモリナガ（カゼイン）キットの検量線では95%信頼区間内に入り、また、試料1、試料2ともに $z$ -スコアの絶対値は1未満であった。

今回の結果からは、検量線が全体の集団から外れても、必ずしも $z$ -スコアの異常にはつながらなかったが、精度管理を行う上で、背景データとして検量線の線形を蓄積することは意味があると考えられる。背景データから明らかに異なった検量線が得られた場合、データ解釈には注意が必要な場合もあるだろう。

## (7) 測定値の相関性

### a) 同一キットにおける試料間の測定値の相関性

複数機関が使用したモリナガ（カゼイン）キットおよび日本ハムキットににおける、試料1と試料2間の報告値の相関を図17に示した。その結果、相関係数はモリナガ（カゼイン）キットで0.864、日本ハムキットでは0.783となり、いずれも強い相関が認められた。また、モリナガ

（カゼイン）キット、日本ハムキットともに確率楕円がほぼ $y=x$ 上に伸びていた。これは試料1の報告値と試料2の報告値がほぼ等しかったことを示している。

### b) 同一試料におけるキット間の測定値の相関性

各試料におけるモリナガ（カゼイン）キットと日本ハムキット間の相関を図18に示した。試料1では相関係数が0.470、試料2では0.430とどちらも弱い相関を示した。各点は、比較的まとまってプロットされているが、これは、どの機関でも、どちらのキットにおいても各試料で得られた測定値に大きな差がなく、結果的にデータがグラフ上で集まったためと思われる。

## 5) 回収データの確認

各参加機関からデータを回収後、提出された生データと報告書のデータ確認を行った。本年度は特に問題は認められなかった。

## 6) 検査手法のまとめ

各参加機関が検査に用いた方法を表16および表17に示した。担当者の経験年数は2年以内が半数以上(17/31機関)であり、経験年数の少ない担当者の積極的な外部精度管理調査への参加がうかがわれた。また、複数の担当者により試験を行っている旨の記載が5機関で認められた。

手法では全機関が遠心分離を実施、ろ過は23機関が実施していた。ピペット操作では、抽出液等の希釈操作および、試薬の添加はほとんどの機関(28/31)が手動で行っており、自動操作の3機関は試薬のプレートへの添加も自動で行っていた。プレートの洗浄方法については、手動が

15機関、自動が16機関と、ほぼ同数であった。

検量線の近似曲線については4パラメーターロジスティック（4PL）が推奨されているが、得られた回答では30機関は4PLを用い、1機関は5パラメーターロジスティック（5PL）を使用した。しかしながら、5PLを使用した機関はBioradのMicroplate Manager, Ver. 5.2を用いており、同ソフトウェアを使用する際は5PLの使用が推奨されていることから、問題ないと判断した。

個々のキットの操作方法は、複数機関が使用したモリナガ（カゼイン）キットと日本ハムキットについてまとめた。両キットとも操作方法に大きな違いはなく、抽出から測定までの期間は日本ハムキットにおいて1日保存した機関が多かったが、提出された記録からこれらの機関のほとんどは、抽出を複数キット分、同時に行い、キットごとに日にちをずらして測定を行ったことによる。

操作法全般からはスコアが外れる要因となるような操作は認められなかった。

## 7) 検査実績のまとめ

参考として参加機関における検査実績（2019年度）を表18および表19に示した。

検査項目について、卵、乳、小麦、そば、落花生およびえび、かにをまとめた甲殻類の特定原材料6種中、すべてで実績があったのは9機関であり、全体の1/3となった。

ELISA法では、実施件数は卵で約760件、乳、小麦において700件程度、そば、落花生で500件超、甲殻類では300件程度であった。卵、乳、小麦は加工食品中での使

用頻度が高いことから、残りの3種よりも多くの検査が求められるためと考えられる。

ELISA法による3491試験中、陽性と判定された試験数は62試験（1.8%）、実施された確認試験14試験中、陽性と判定された試験は11試験（78.6%）であった。したがって、ELISA陽性の場合、確認試験においても高確率で陽性となるとの結果を得た。

## 2. 添加用乳タンパク質の検討

乳検出のための試料作製を行うに際し、添加する乳タンパク質の検討を行った。

スキムミルク又は全乳粉を乳タンパク質としてベビーフード鮭又はとうもろこしペーストに添加した試料を用いて、4種類のELISAキットによる測定を行った。

測定は作製後0か月と6か月で行い、安定性についても確認した。結果は図19に示す。

全ての試料において日本ハムキット及びモリナガ（カゼイン）キットでは、プリマキット及びモリナガ（BLG）キットに比べて高めの値が測定された。

ベビーフード鮭を基材とした試料では、スキムミルク、全粉乳どちらの添加タンパク質でも、日本ハムキット及びモリナガ（カゼイン）キットでの含有量は10～12  $\mu\text{g/g}$ であったが、とうもろこしペーストを基材とした試料ではどちらの添加タンパク質でもモリナガ（カゼイン）キットでは10～12  $\mu\text{g/g}$ であったが、日本ハムキットでは8～9  $\mu\text{g/g}$ とよりもやや低い値を示した。

一方、 $\beta$ -ラクトグロブリンを標的とするプリマハム及びモリナガ（BLG）キットでは添加乳タンパク質に関わらず、ベビ

ーフード鮭試料で6.5~7.2 µg/g、とうもろこし試料で5.4~6.3 µg/gと、とうもろこし試料で若干低めの値を示した。

以上の結果から、乳タンパク質に関してはスキムミルクと全粉乳ではキットに対する反応性に違いは認められなかったが、とうもろこしペーストのように基材によっては反応に差が認められた。基材による検出感度の違いは、周知であり、外部精度管理調査用の試料開発に際しては、複数の基材を用いての検討は必須であると考えられる。また、添加用乳タンパク質としてはより品質が安定していると考えられる試薬ベースのスキムミルクを使用することとした。

#### 4. 外部精度管理調査試料の予備検討

外部精度管理調査試料の基材としてこれまでに使用実績があるベビーフード及びこしあんを用い、スキムミルクを乳タンパク質として添加した2試料について6か月間の安定性を経時的に測定した。結果は図20に示す。

ベビーフード、こしあんともに6か月[モリナガ (BLG) キットでは8か月]を通して日本ハムキット及びモリナガ (カゼイン) キットで高値 (ベビーフード試料: 11.0~12.4 µg/g、こしあん試料: 10.6~12.1 µg/g)、プリマキット及びモリナガ (BLG) キットで低値 (ベビーフード試料: 6.5~7.3 µg/g、こしあん試料: 6.3~7.2 µg/g) となった。これは前項のベビーフード鮭試料及びとうもろこしペースト試料と同じ傾向であった。日本ハムキットでは標的抗原はカゼイン、β-ラクトグロブリン、ラクトアルブミン等の複合タンパク質であり、モリナガ (カゼ

イン) キットではカゼインを標的抗体としている。また、プリマキットとモリナガ (BLG) キットではβ-ラクトグロブリンを標的抗原としていることから、明らかな高値及び低値は、キットの特性と考えられた。

安定性については両試料ともすべてのキットで6か月後に89%以上となり、十分に安定していたと考えられる。

#### E. 結論

本年度の外部精度管理調査に関するパイロットスタディは、乳タンパク質を添加した2試料を用いて31機関を対象に実施した。

パイロットスタディに先立ち、添加用乳タンパク質及び試料中の乳タンパク質の安定性について検討した。その結果、スキムミルクを添加用乳タンパク質として、基材にはベビーフードとこしあんを使用し、試料を作製した。

参加機関より回収したデータからメジアン・クリーニング (MC) 後にロバスト統計量の算出した。なお、MCによる除外機関は求められなかった。

得られたロバスト平均値およびロバスト標準偏差を用いて $z$ スコアを算出、また、 $Xbar-R$ 管理図を代用した方法による評価を行った。

解析は各キットおよび試料ごとに行ったところ、 $z$ スコアの絶対値が3以上となった機関が全体でのべ3機関認められた。

また、 $Xbar$ 管理図では管理限界線の範囲を超える機関は認められなかったが、 $R$ 管理図で管理限界線を超えた機関は全体でのべ3機関認められた。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

なし

### 2. 学会発表

若栗忍, 佐藤夏岐, 渡辺卓穂: アレルギー物質 (小麦タンパク質) を含む特定原材料検査のための技能試験プログラムのパイロットスタディ2, 第116回日本食品衛生学会学術講演会 (Web) 2020

## H. 知的所有権の取得状況

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

表1 外部精度管理調査試料の均質性試験における各キットの結果

キット メーカー	含有量 ( $\mu\text{g/g}$ )			
	試料1		試料2	
	平均 $\pm$ SD	相対標準偏差(%)	平均 $\pm$ SD	相対標準偏差(%)
モリナガ (カゼイン)	11.84 $\pm$ 0.54	4.6	11.59 $\pm$ 0.43	3.7
日本ハム	11.17 $\pm$ 0.41	3.7	11.02 $\pm$ 0.41	3.7
プリマハム	7.29 $\pm$ 0.23	3.2	7.59 $\pm$ 0.29	3.8
[参考] モリナガ (BLG)	7.06 $\pm$ 0.25	3.5	6.83 $\pm$ 0.26	3.8

表2 外部精度管理調査研究試料の安定性試験の結果

キット メーカー	試料1		試料2	
	含有量 ( $\mu\text{g/g}$ )	安定性 (%)	含有量 ( $\mu\text{g/g}$ )	安定性 (%)
	平均 $\pm$ SD	平均 $\pm$ SD	平均 $\pm$ SD	平均 $\pm$ SD
モリナガ (カゼイン)	11.45 $\pm$ 0.24	96.7 $\pm$ 2.0	11.25 $\pm$ 0.28	97.1 $\pm$ 2.4
日本ハム	11.43 $\pm$ 0.09	102.4 $\pm$ 0.8	11.52 $\pm$ 0.21	104.6 $\pm$ 1.9
プリマハム	7.16 $\pm$ 0.09	98.2 $\pm$ 1.2	7.40 $\pm$ 0.20	97.6 $\pm$ 2.6
[参考] モリナガ (BLG)	6.99 $\pm$ 0.10	99.1 $\pm$ 1.3	6.89 $\pm$ 0.24	100.9 $\pm$ 3.6

表3 外部精度管理調査研究報告結果のロバスト解析による結果

1) 試料1

	モリナガ (カゼイン)	日本ハム	プリマハム*	[参考] モリナガ (BLG)*
データ数 (有効機関数)	30	31	( 1 )	( 1 )
平均値 (µg/g)	12.15	11.57	( 7.13 )	( 7.70 )
標準偏差 (µg/g)	1.00	0.66	—	—
相対標準偏差 (%)	8.23	5.70	—	—
添加量 (µg/g)	10			

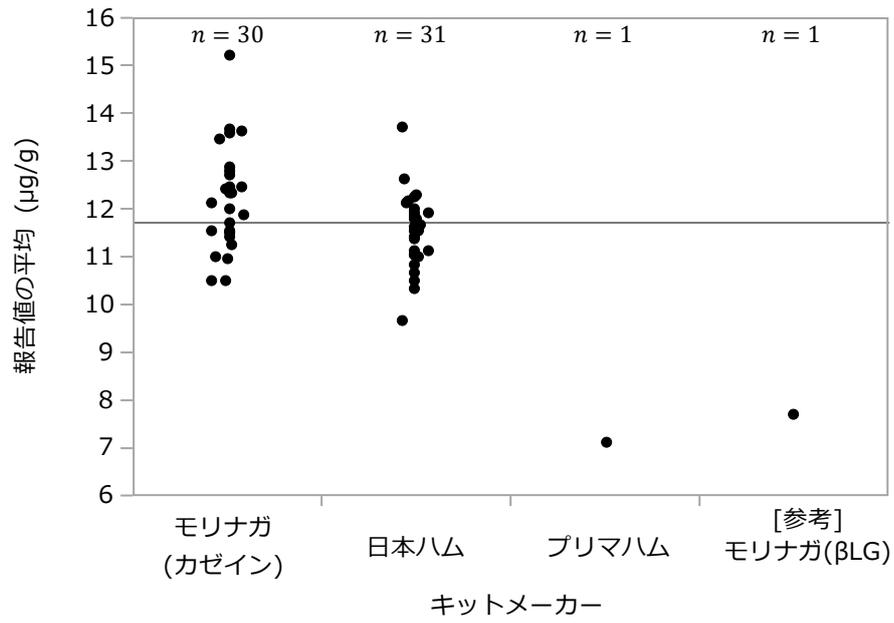
\* プリマハムおよびモリナガ (BLG) キットは1機関のため統計解析は行わなかった。  
数値は参考データ

2) 試料2

	モリナガ (カゼイン)	日本ハム	プリマハム*	[参考] モリナガ (BLG)*
データ数 (有効機関数)	30	31	( 1 )	( 1 )
平均値 (µg/g)	11.93	11.66	( 7.43 )	( 7.92 )
標準偏差 (µg/g)	0.93	0.58	—	—
相対標準偏差 (%)	7.80	4.97	—	—
添加量 (µg/g)	10			

\* プリマハムおよびモリナガ (BLG) キットは1機関のため統計解析は行わなかった。  
数値は参考データ

a) 試料1



b) 試料2

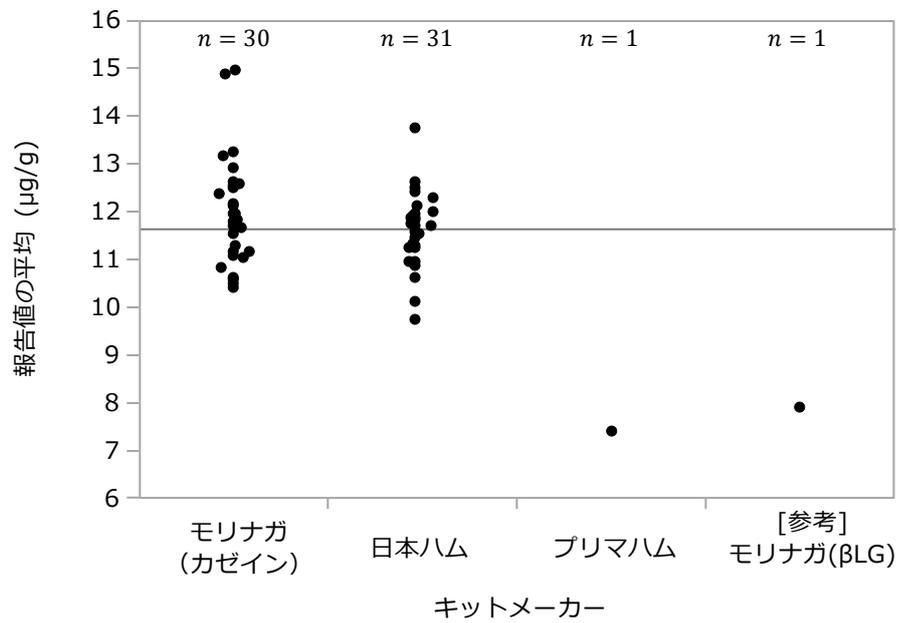


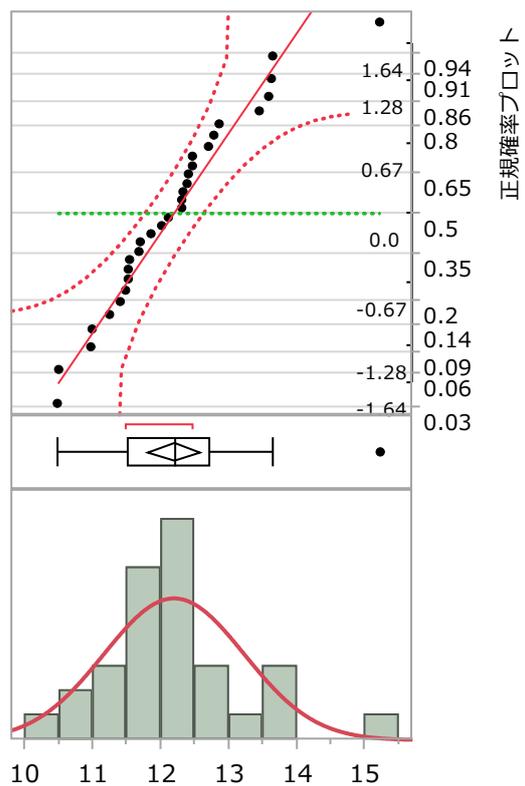
図1 外部精度管理調査研究試料におけるキットごとのデータ分布

表4 モリナガ（カゼイン）キットによる測定結果の統計量一覧

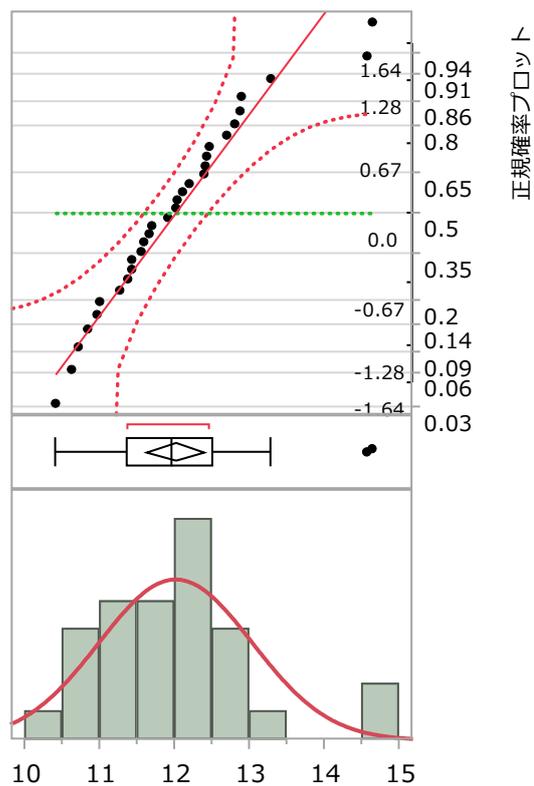
試料名		試料1	試料2
統計量の種類		ロバスト方式	ロバスト方式
MCによる除外機関		0	0
データ（有効機関）数		30	30
測定 の 統計量*	平均値	12.15	11.93
	標準偏差	1.00	0.93
	相対標準偏差	8.23	7.80
	第1四分位数（Q1）	11.515	11.35
	中央値（メジアン）	12.2225	11.965
	第3四分位数（Q3）	12.7275	12.525
	最大値	15.22	14.65
	最小値	10.485	10.405
	範囲	4.735	4.245
	四分位範囲	1.2125	1.175
測定 の 差*	Rの平均	0.45	0.49
	上部管理限界	1.47	1.60

\*：単位は相対標準偏差では%、それ以外では $\mu\text{g/g}$

a) 試料1



b) 試料2



(機関数 30)

図2 モリナガ (カゼイン) キットを用いた測定によるヒストグラムおよび正規確率プロット

表5 モリナガ（カゼイン）キットによる試料1の結果および評価一覧

機関 番号	試料1の報告値		$\bar{X}$ 管理図		$R$ 管理図		$z$ -スコア	
	1	2	$\bar{X}$	評価	$R$	評価	$z$ -スコア	評価
13	10.54	10.43	10.485	満足	0.11	満足	-1.665	満足
20	10.48	10.52	10.500	満足	0.04	満足	-1.650	満足
11	11.23	10.71	10.970	満足	0.52	満足	-1.180	満足
16	11.26	10.75	11.005	満足	0.51	満足	-1.145	満足
21	11.12	11.37	11.245	満足	0.25	満足	-0.905	満足
19	11.27	11.54	11.405	満足	0.27	満足	-0.745	満足
30	12.39	10.61	11.500	満足	1.78	不満足	-0.650	満足
29	11.74	11.30	11.520	満足	0.44	満足	-0.630	満足
28	11.73	11.32	11.525	満足	0.41	満足	-0.625	満足
2	11.75	11.33	11.540	満足	0.42	満足	-0.610	満足
25	11.97	11.42	11.695	満足	0.55	満足	-0.455	満足
24	11.80	11.61	11.705	満足	0.19	満足	-0.445	満足
9	11.81	11.90	11.855	満足	0.09	満足	-0.295	満足
12	12.56	11.48	12.020	満足	1.08	満足	-0.130	満足
6	12.40	11.86	12.130	満足	0.54	満足	-0.020	満足
1	12.43	12.20	12.315	満足	0.23	満足	0.165	満足
23	11.97	12.67	12.320	満足	0.70	満足	0.170	満足
17	12.53	12.14	12.335	満足	0.39	満足	0.185	満足
27	12.11	12.69	12.400	満足	0.58	満足	0.250	満足
4	12.33	12.52	12.425	満足	0.19	満足	0.275	満足
10	12.51	12.42	12.465	満足	0.09	満足	0.315	満足
22	12.82	12.12	12.470	満足	0.70	満足	0.320	満足
8	12.84	12.58	12.710	満足	0.26	満足	0.560	満足
3	12.69	12.87	12.780	満足	0.18	満足	0.630	満足
7	12.58	13.14	12.860	満足	0.56	満足	0.710	満足
5	13.24	13.68	13.460	満足	0.44	満足	1.310	満足
31	13.70	13.48	13.590	満足	0.22	満足	1.440	満足
15	13.39	13.87	13.630	満足	0.48	満足	1.480	満足
18	13.75	13.57	13.660	満足	0.18	満足	1.510	満足
26	14.65	15.79	15.220	満足	1.14	満足	3.070	不満足

評価基準

$\bar{X}$ 管理図 満足： $LCL(8.505) \leq \bar{X} \leq UCL(15.795)$

$R$ 管理図 満足： $0 \leq R \leq UCL(1.47)$

$z$ -スコア 満足： $|z\text{-スコア}| < 3$

不満足： $\bar{X} < LCL$ または $UCL < \bar{X}$

不満足： $UCL < R$

不満足： $3 \leq |z\text{-スコア}|$

表6 モリナガ（カゼイン）キットによる試料2の結果および評価一覧

機関 番号	試料2の報告値		$\bar{X}$ 管理図		$R$ 管理図		$Z$ スコア	
	1	2	$\bar{X}$	評価	$R$	評価	$Z$ スコア	評価
20	10.40	10.41	10.405	満足	0.01	満足	-1.640	満足
25	10.75	10.49	10.620	満足	0.26	満足	-1.409	満足
13	10.84	10.57	10.705	満足	0.27	満足	-1.317	満足
11	10.66	11.03	10.845	満足	0.37	満足	-1.167	満足
29	11.31	10.63	10.970	満足	0.68	満足	-1.032	満足
24	10.91	11.09	11.000	満足	0.18	満足	-1.000	満足
2	11.68	10.84	11.260	満足	0.84	満足	-0.720	満足
21	11.61	11.15	11.380	満足	0.46	満足	-0.591	満足
12	11.67	11.17	11.420	満足	0.50	満足	-0.548	満足
19	11.29	11.56	11.425	満足	0.27	満足	-0.543	満足
16	11.30	11.82	11.560	満足	0.52	満足	-0.398	満足
6	11.51	11.67	11.590	満足	0.16	満足	-0.366	満足
17	11.60	11.71	11.655	満足	0.11	満足	-0.296	満足
30	12.32	11.07	11.695	満足	1.25	満足	-0.253	満足
10	12.02	11.79	11.905	満足	0.23	満足	-0.027	満足
7	12.10	11.95	12.025	満足	0.15	満足	0.102	満足
9	12.13	11.95	12.040	満足	0.18	満足	0.118	満足
28	12.90	11.30	12.100	満足	1.60	満足	0.183	満足
22	12.23	12.16	12.195	満足	0.07	満足	0.285	満足
1	12.15	12.62	12.385	満足	0.47	満足	0.489	満足
4	12.43	12.39	12.410	満足	0.04	満足	0.516	満足
5	12.36	12.50	12.430	満足	0.14	満足	0.538	満足
3	12.80	12.13	12.465	満足	0.67	満足	0.575	満足
23	12.24	13.17	12.705	満足	0.93	満足	0.833	満足
18	12.39	13.23	12.810	満足	0.84	満足	0.946	満足
27	12.83	12.91	12.870	満足	0.08	満足	1.011	満足
31	13.22	12.57	12.895	満足	0.65	満足	1.038	満足
8	14.04	12.55	13.295	満足	1.49	満足	1.468	満足
15	14.20	14.95	14.575	満足	0.75	満足	2.844	満足
26	14.42	14.88	14.650	満足	0.46	満足	2.925	満足

評価基準

$\bar{X}$ 管理図 満足： $LCL(8.351) \leq \bar{X} \leq UCL(15.509)$

$R$ 管理図 満足： $0 \leq R \leq UCL(1.60)$

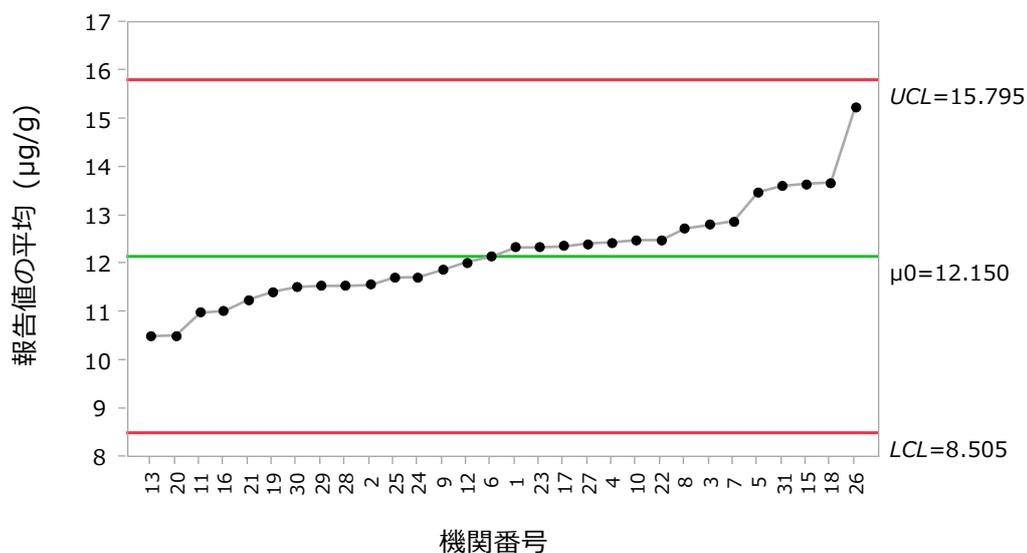
$Z$ スコア 満足： $|\bar{Z}\text{スコア}| < 3$

不満足： $\bar{X} < LCL$ または $UCL < \bar{X}$

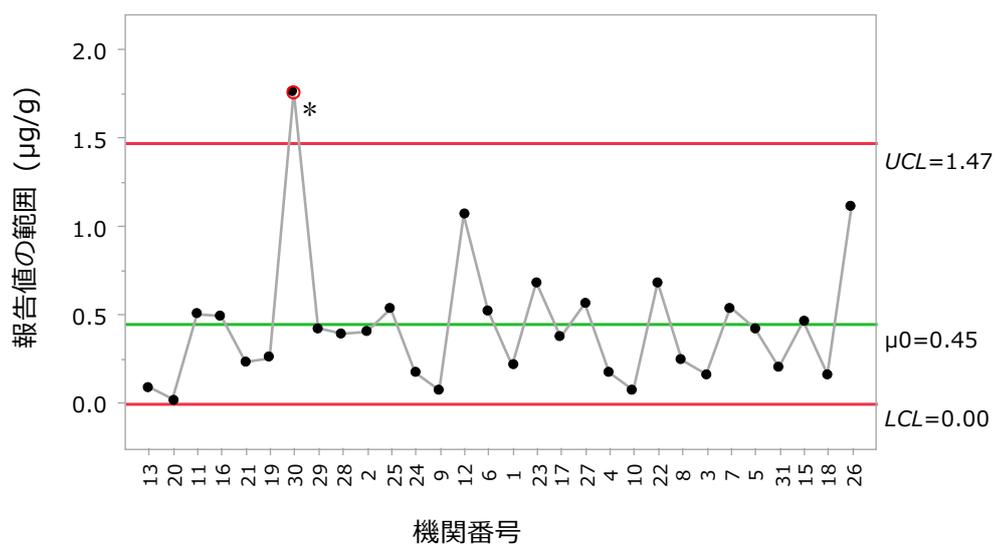
不満足： $UCL < R$

不満足： $3 \leq |\bar{Z}\text{スコア}|$

a)  $\bar{X}$ 管理図



b)  $R$ 管理図

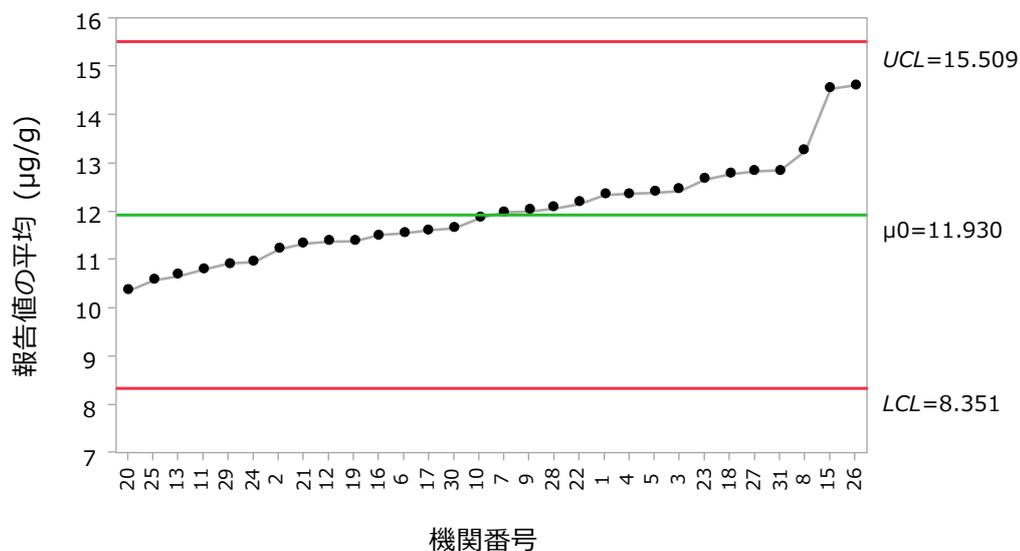


(機関数 30)

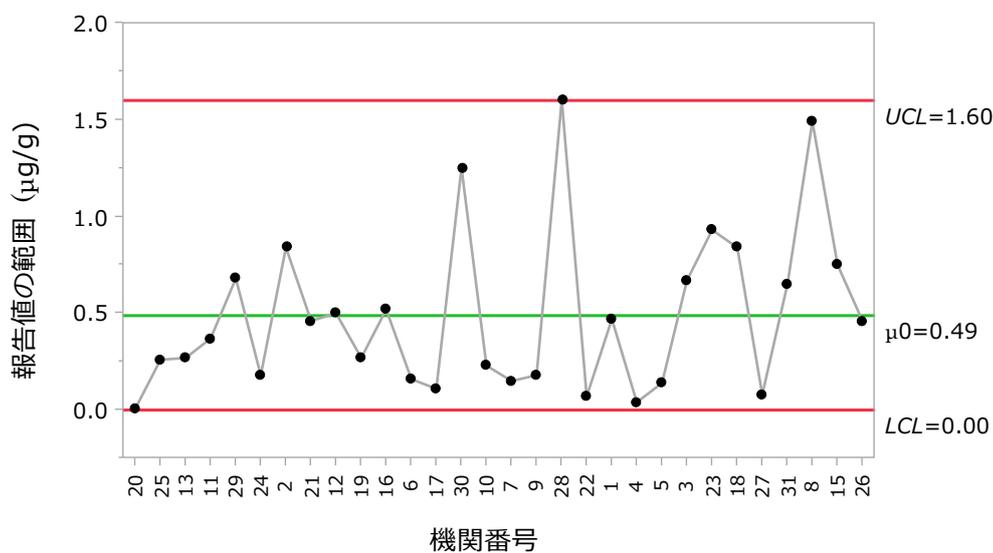
図3 試料1のモリナガ (カゼイン) キットを用いた測定による  $\bar{X}$ - $R$ 管理図

$\bar{X}$ 管理図 (a) の上部管理限界線 (UCL) および下部管理限界線 (LCL) はロバスト平均±30%  
 $R$ 管理図 (b) のUCLおよびLCLは $R$ の平均値とJISハンドブックの係数D4 (=3.267) から算出

a)  $\bar{X}$ 管理図



b)  $R$ 管理図

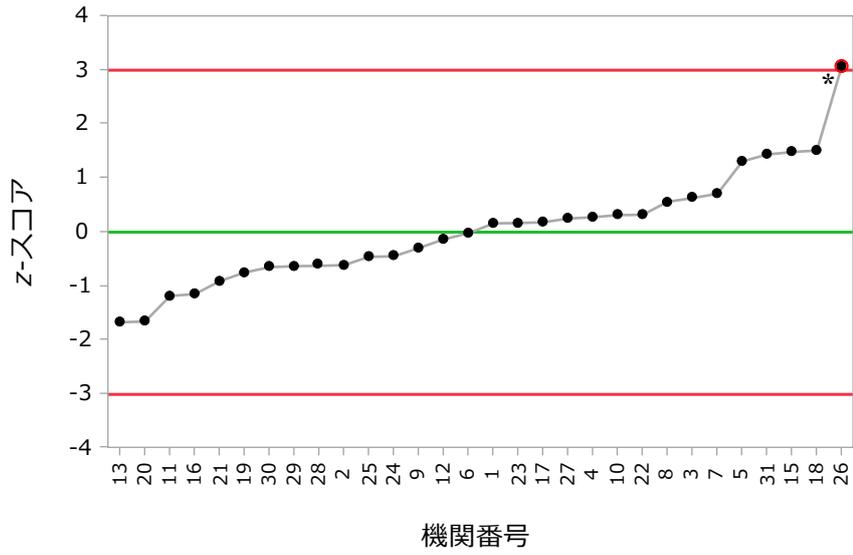


(機関数 30)

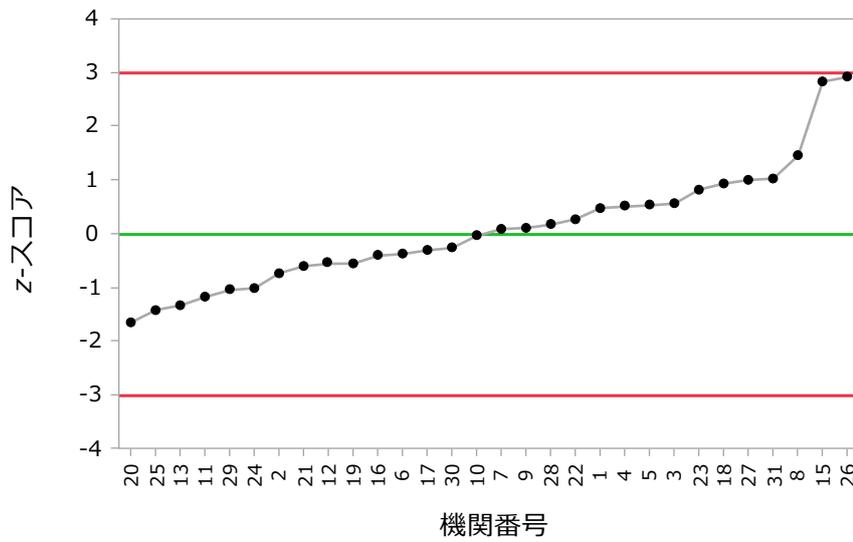
図4 試料2のモリナガ（カゼイン）キットを用いた測定による  $\bar{X}$ - $R$ 管理図

$\bar{X}$ 管理図 (a) の上部管理限界線 (UCL) および下部管理限界線 (LCL) はロバスト平均±30%  $R$ 管理図 (b) のUCLおよびLCLは $R$ の平均値とJISハンドブックの係数D4 (=3.267) から算出

a) 試料1



b) 試料2



(機関数 30)

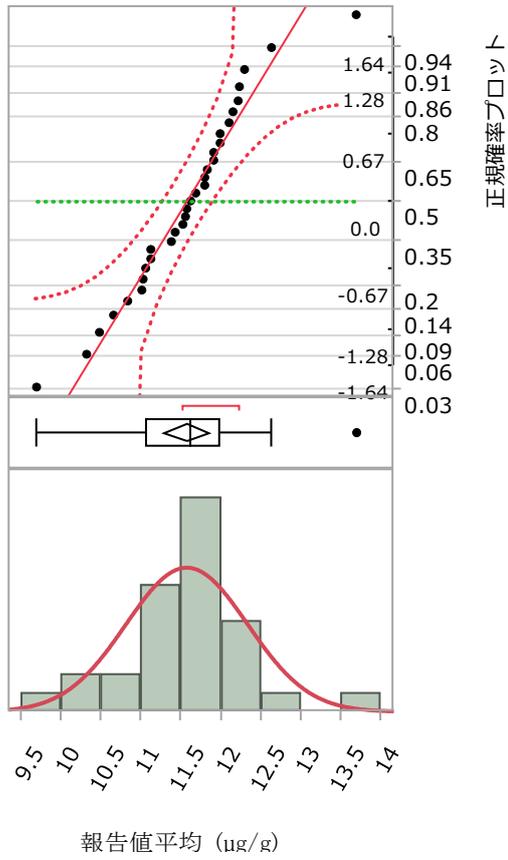
図5 モリナガ (カゼイン) キットを用いた測定によるz-スコア

表7 日本ハムキットによる測定結果の統計量一覧

試料名		試料1	試料2
統計量の種類		ロバスト方式	ロバスト方式
MCによる除外機関		0	0
データ（有効機関）数		31	31
測定 の 統計量*	平均値	11.57	11.66
	標準偏差	0.66	0.58
	相対標準偏差	5.70	4.97
	第1四分位数（Q1）	11.06	11.235
	中央値（メジアン）	11.615	11.675
	第3四分位数（Q3）	11.995	11.98
	最大値	13.7	13.32
	最小値	9.685	9.805
	範囲	4.015	3.515
	四分位範囲	0.935	0.745
測定 の 差*	Rの平均	0.29	0.34
	上部管理限界	0.95	1.11

\*：単位は相対標準偏差では%、それ以外では $\mu\text{g/g}$

a) 試料1



b) 試料2

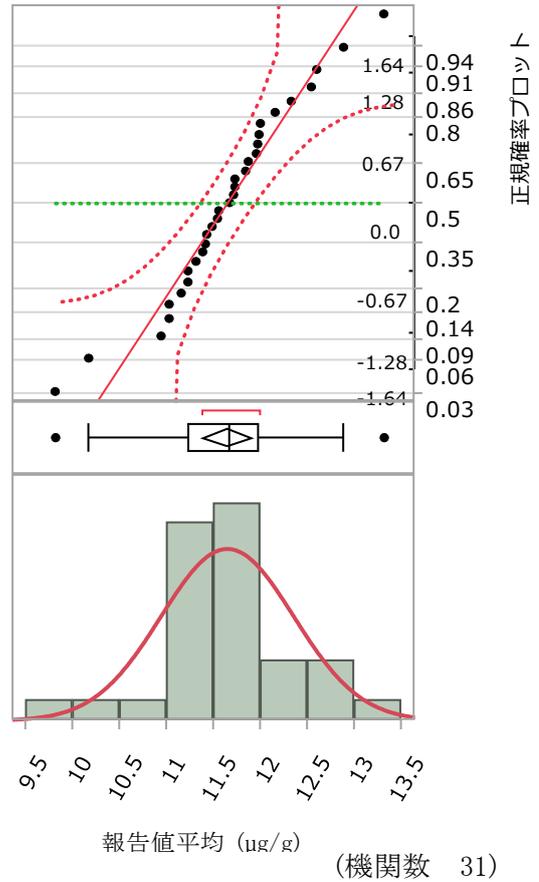


図6 日本ハムキットを用いた測定によるヒストグラムおよび正規確率プロット

表8 日本ハムキットによる試料1の結果および評価一覧

機関 番号	試料1の報告値		$\bar{X}$ 管理図		$R$ 管理図		$Z$ スコア	
	1	2	$\bar{X}$	評価	$R$	評価	$Z$ スコア	評価
14	9.95	9.42	9.685	満足	0.53	満足	-2.856	満足
20	10.04	10.59	10.315	満足	0.55	満足	-1.902	満足
25	10.45	10.52	10.485	満足	0.07	満足	-1.644	満足
23	10.52	10.78	10.650	満足	0.26	満足	-1.394	満足
5	10.95	10.72	10.835	満足	0.23	満足	-1.114	満足
11	11.01	11.00	11.005	満足	0.01	満足	-0.856	満足
19	11.28	10.77	11.025	満足	0.51	満足	-0.826	満足
16	11.18	10.94	11.060	満足	0.24	満足	-0.773	満足
30	10.87	11.38	11.125	満足	0.51	満足	-0.674	満足
13	11.38	10.88	11.130	満足	0.50	満足	-0.667	満足
29	11.37	11.38	11.375	満足	0.01	満足	-0.295	満足
28	11.08	11.78	11.430	満足	0.70	満足	-0.212	満足
10	11.54	11.52	11.530	満足	0.02	満足	-0.061	満足
6	11.68	11.42	11.550	満足	0.26	満足	-0.030	満足
18	11.60	11.55	11.575	満足	0.05	満足	0.008	満足
9	11.62	11.61	11.615	満足	0.01	満足	0.068	満足
24	11.91	11.46	11.685	満足	0.45	満足	0.174	満足
22	11.94	11.65	11.795	満足	0.29	満足	0.341	満足
21	11.89	11.71	11.800	満足	0.18	満足	0.348	満足
31	11.93	11.72	11.825	満足	0.21	満足	0.386	満足
8	11.86	11.95	11.905	満足	0.09	満足	0.508	満足
17	11.84	11.97	11.905	満足	0.13	満足	0.508	満足
2	12.21	11.76	11.985	満足	0.45	満足	0.629	満足
1	12.03	11.96	11.995	満足	0.07	満足	0.644	満足
15	11.64	12.57	12.105	満足	0.93	満足	0.811	満足
12	12.05	12.25	12.150	満足	0.20	満足	0.879	満足
7	12.29	12.16	12.225	満足	0.13	満足	0.992	満足
27	12.30	12.17	12.235	満足	0.13	満足	1.008	満足
26	12.32	12.29	12.305	満足	0.03	満足	1.114	満足
4	12.52	12.74	12.630	満足	0.22	満足	1.606	満足
3	14.18	13.22	13.700	満足	0.96	不満足	3.227	不満足

評価基準

$\bar{X}$ 管理図 満足： $LCL(8.099) \leq \bar{X} \leq UCL(15.041)$

$R$ 管理図 満足： $0 \leq R \leq UCL(0.95)$

$Z$ -スコア 満足： $|Z\text{-スコア}| < 3$

不満足： $\bar{X} < LCL$ または $UCL < \bar{X}$

不満足： $UCL < R$

不満足： $3 \leq |Z\text{-スコア}|$

表9 日本ハムキットによる試料2の結果および評価一覧

機関 番号	試料2の報告値		$Xbar$ 管理図		$R$ 管理図		$Z$ -スコア	
	1	2	$Xbar$	評価	$R$	評価	$Z$ -スコア	評価
25	9.87	9.74	9.805	満足	0.13	満足	-3.198	不満足
14	10.23	10.12	10.175	満足	0.11	満足	-2.560	満足
24	11.25	10.62	10.935	満足	0.63	満足	-1.250	満足
11	11.18	10.87	11.025	満足	0.31	満足	-1.095	満足
10	11.08	10.97	11.025	満足	0.11	満足	-1.095	満足
28	10.97	11.35	11.160	満足	0.38	満足	-0.862	満足
29	11.51	10.95	11.230	満足	0.56	満足	-0.741	満足
19	11.22	11.25	11.235	満足	0.03	満足	-0.733	満足
23	11.36	11.26	11.310	満足	0.10	満足	-0.603	満足
20	11.31	11.46	11.385	満足	0.15	満足	-0.474	満足
30	10.83	11.99	11.410	満足	1.16	不満足	-0.431	満足
13	11.13	11.72	11.425	満足	0.59	満足	-0.405	満足
17	11.66	11.30	11.480	満足	0.36	満足	-0.310	満足
5	11.40	11.69	11.545	満足	0.29	満足	-0.198	満足
31	11.38	11.74	11.560	満足	0.36	満足	-0.172	満足
26	11.82	11.53	11.675	満足	0.29	満足	0.026	満足
7	11.85	11.57	11.710	満足	0.28	満足	0.086	満足
22	11.62	11.83	11.725	満足	0.21	満足	0.112	満足
2	11.91	11.55	11.730	満足	0.36	満足	0.121	満足
16	11.82	11.88	11.850	満足	0.06	満足	0.328	満足
15	11.91	11.82	11.865	満足	0.09	満足	0.353	満足
21	11.96	11.96	11.960	満足	0.00	満足	0.517	満足
9	12.07	11.87	11.970	満足	0.20	満足	0.534	満足
1	11.85	12.11	11.980	満足	0.26	満足	0.552	満足
6	12.11	11.89	12.000	満足	0.22	満足	0.586	満足
8	12.41	11.90	12.155	満足	0.51	満足	0.853	満足
12	12.26	12.40	12.330	満足	0.14	満足	1.155	満足
18	12.45	12.63	12.540	満足	0.18	満足	1.517	満足
27	12.90	12.29	12.595	満足	0.61	満足	1.612	満足
4	13.29	12.48	12.885	満足	0.81	満足	2.112	満足
3	12.87	13.77	13.320	満足	0.90	満足	2.862	満足

評価基準

$Xbar$ 管理図 満足 :  $LCL (8.162) \leq Xbar \leq UCL (15.158)$

$R$ 管理図 満足 :  $0 \leq R \leq UCL (1.11)$

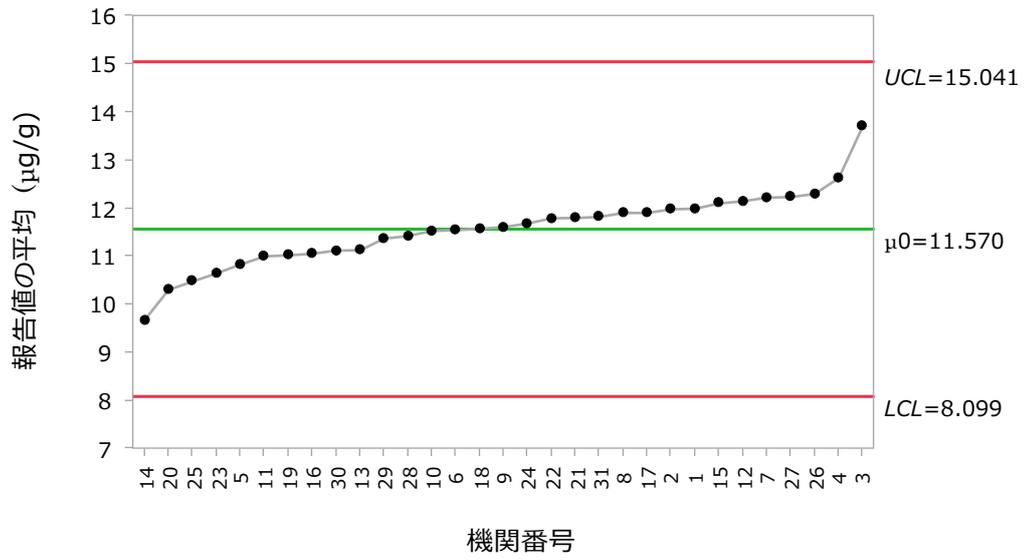
$Z$ -スコア 満足 :  $|Z\text{-スコア}| < 3$

不満足 :  $Xbar < LCL$ または $UCL < Xbar$

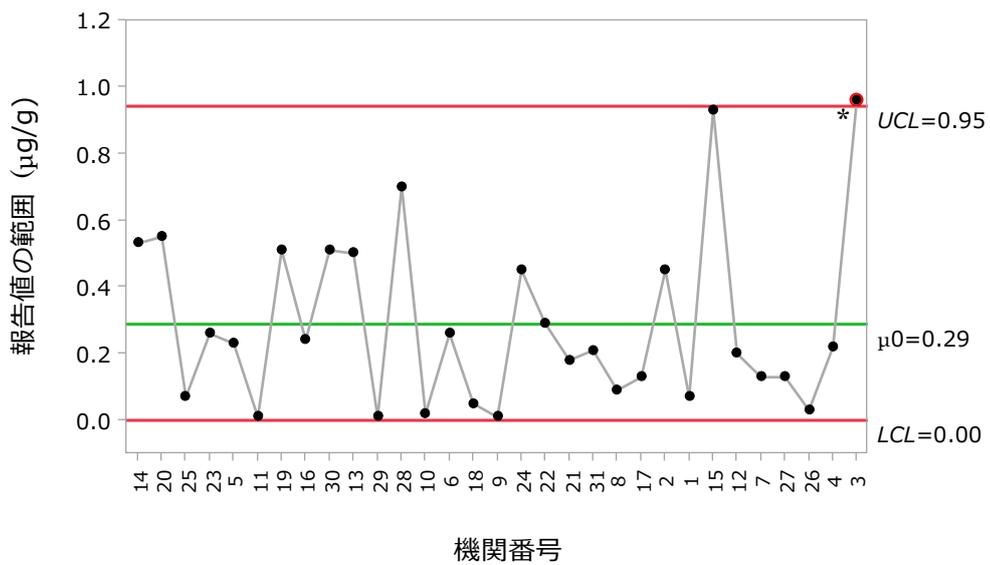
不満足 :  $UCL < R$

不満足 :  $3 \leq |Z\text{-スコア}|$

a)  $\bar{X}$ 管理図



b)  $R$ 管理図

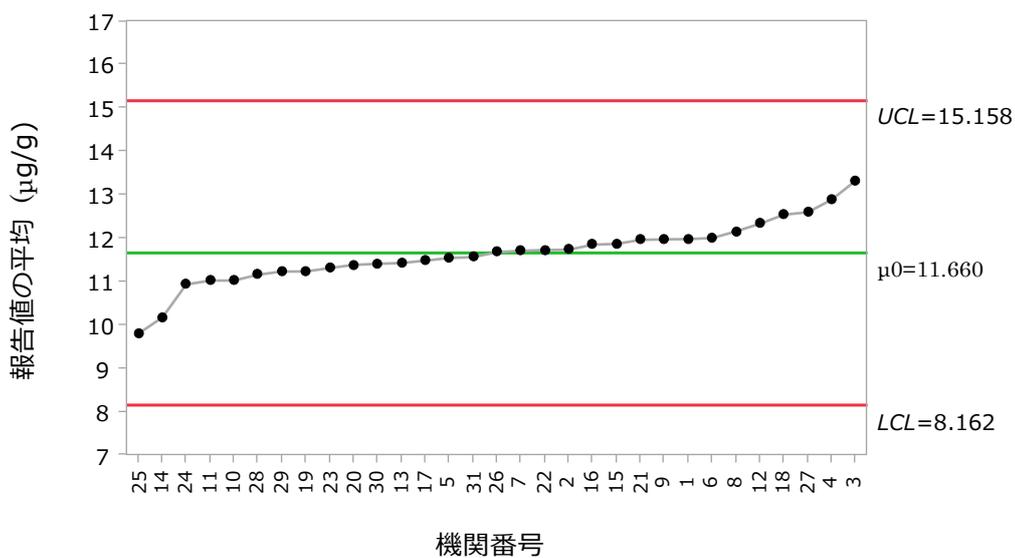


(機関数 31)

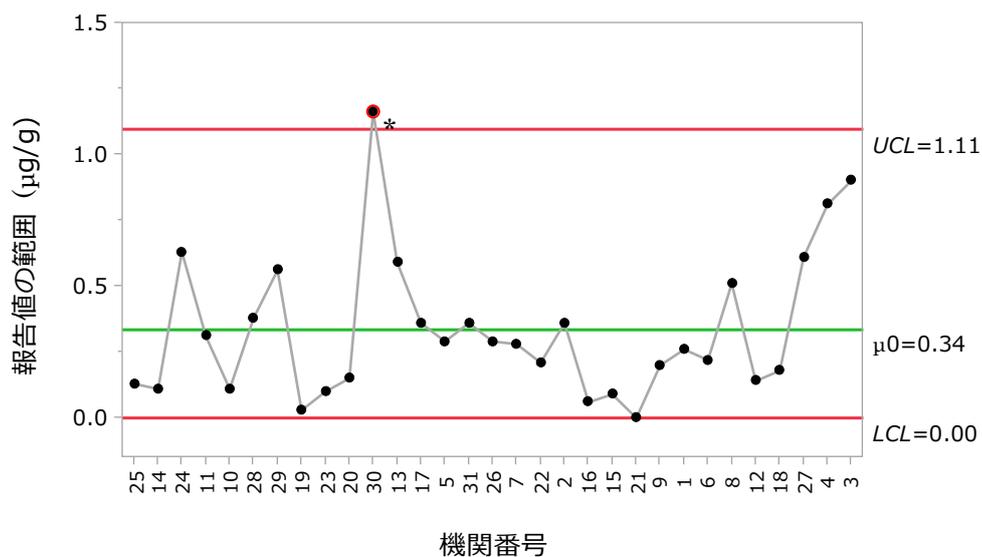
図7 試料1の日本ハムキットを用いた測定による  $\bar{X}$ - $R$ 管理図

$\bar{X}$ 管理図 (a) の上部管理限界線 (UCL) および下部管理限界線 (LCL) はロバスト平均±30%  
 $R$ 管理図 (b) のUCLおよびLCLは $R$ の平均値とJISハンドブックの係数D4 (=3.267) から算出

a)  $\bar{X}$ 管理図



b)  $R$ 管理図

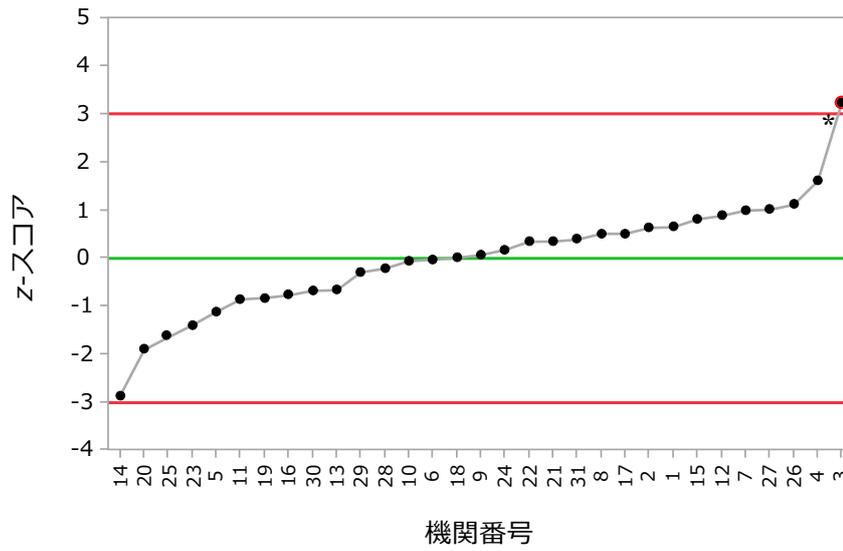


(機関数 31)

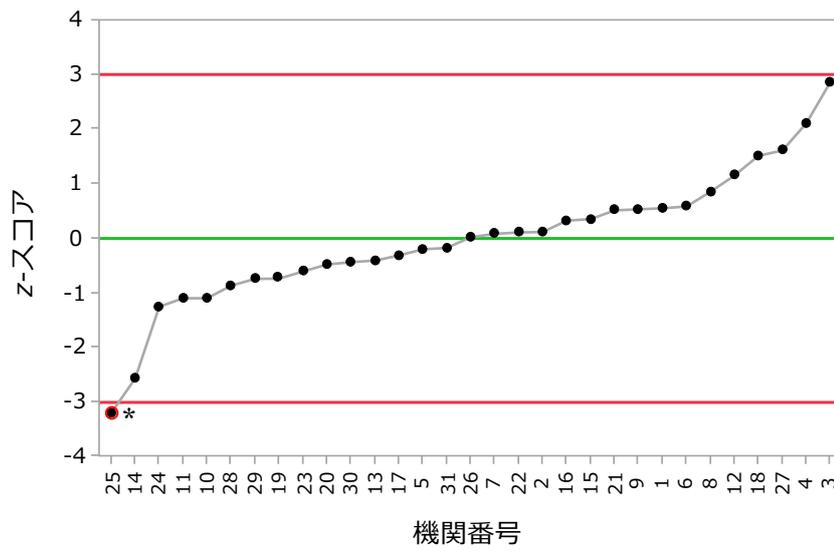
図8 試料2の日本ハムキットを用いた測定による  $\bar{X}$ - $R$ 管理図

$\bar{X}$ 管理図 (a) の上部管理限界線 (UCL) および下部管理限界線 (LCL) はロバスト平均±30%  
 $R$ 管理図 (b) のUCLおよびLCLは $R$ の平均値とJISハンドブックの係数D4 (=3.267) から算出

a) 試料1



b) 試料2



(機関数 31)

図9 日本ハムキットを用いた測定によるzスコア

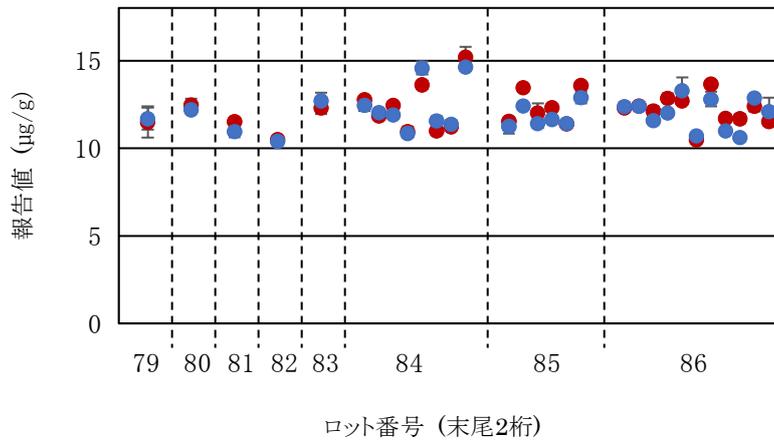
表10 プリマハムキットによる結果一覧

機関番号	試料番号	報告値		$\bar{X}$	$R$
		1	2		
14	試料1	7.22	7.03	7.125	0.19
	試料2	7.44	7.41	7.425	0.03

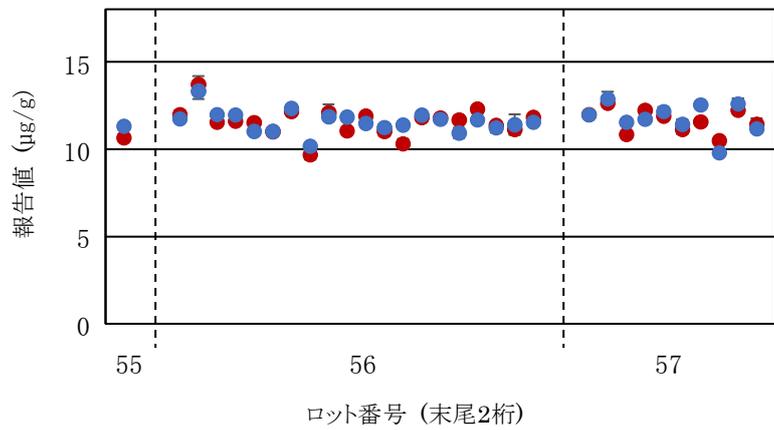
表11 モリナガ (BLG) キットによる結果一覧

機関番号	試料番号	報告値		$\bar{X}$	$R$
		1	2		
A	試料1	7.58	7.82	7.700	0.24
	試料2	7.94	7.90	7.920	0.04

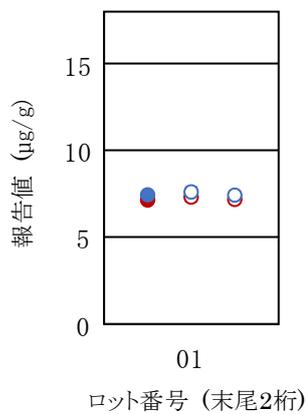
a) モリナガ (カゼイン) キット



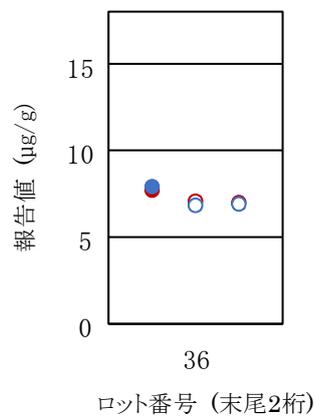
b) 日本ハムキット



c) プリマハムキット



d) モリナガ (BLG) キット



- 試料1
- 試料2
- 食薬センター試料1
- 食薬センター試料2

図10 各キットで得られた報告値のロット間比較

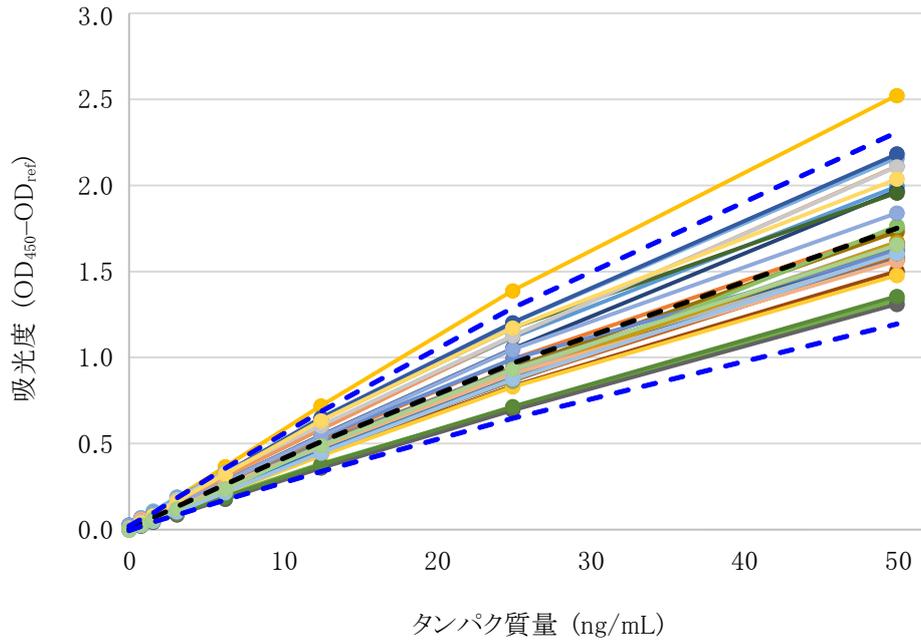


図11 モリナガ（カゼイン）キットを用いた測定における検量線（30機関）  
 ロット別検量線は図16を参照  
 --- 総平均 --- 95%信頼区間

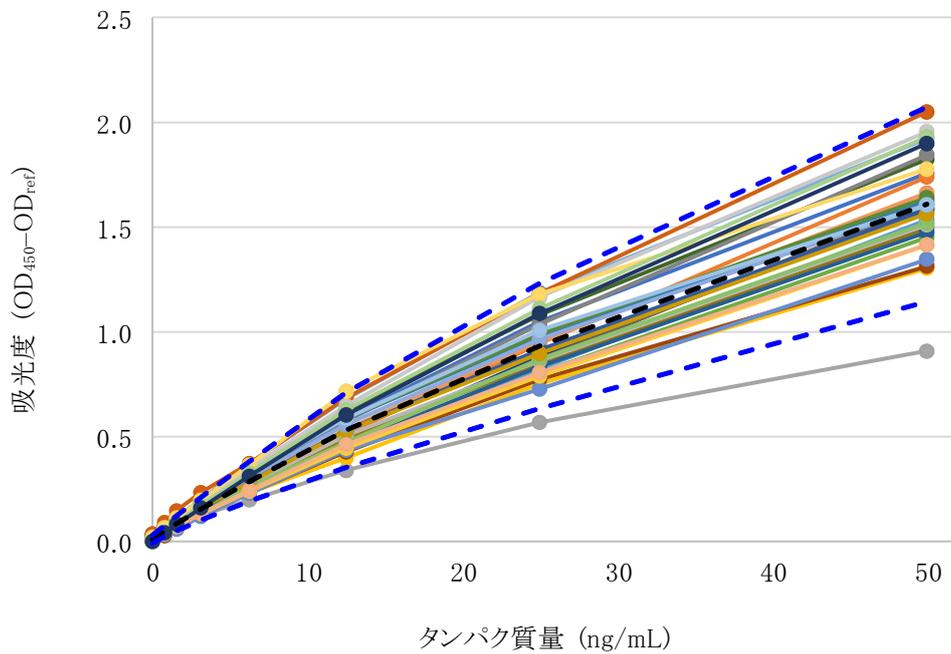


図12 日本ハムキットを用いた測定における検量線（31機関）  
 ロット別検量線は図17を参照  
 --- 総平均 --- 95%信頼区間

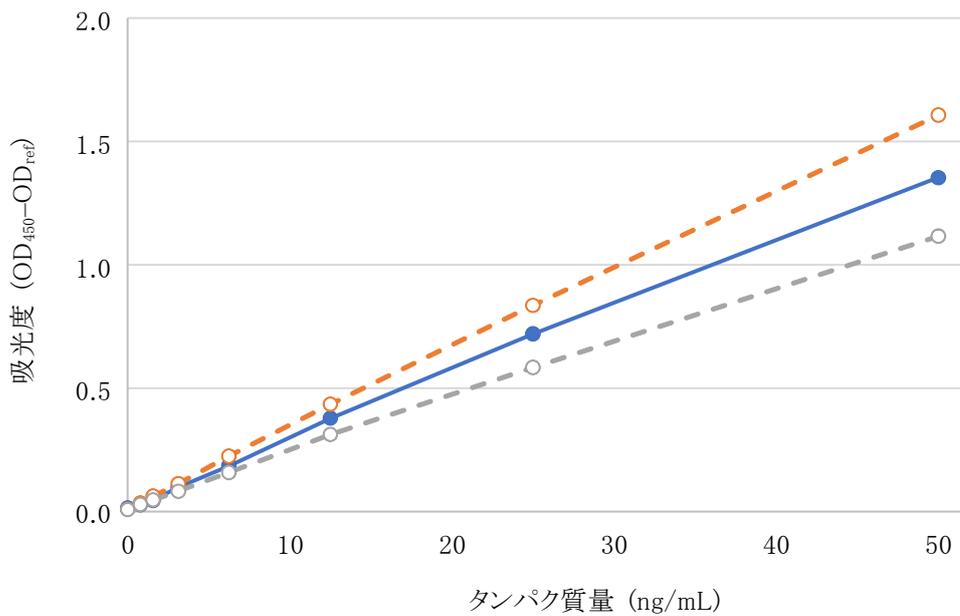


図13 プリマハムキットを用いた測定における検量線  
 (Lot: 2001WHS, 1機関および食薬センター2試験)  
 ● 機関番号14    -○- 食薬センター1    -○- 食薬センター2

表12 外部精度管理調査研究で使用されたプリマハムキットのロットおよび使用機関数

ロット	使用期限	使用機関数
2001WHS	2020/11	1

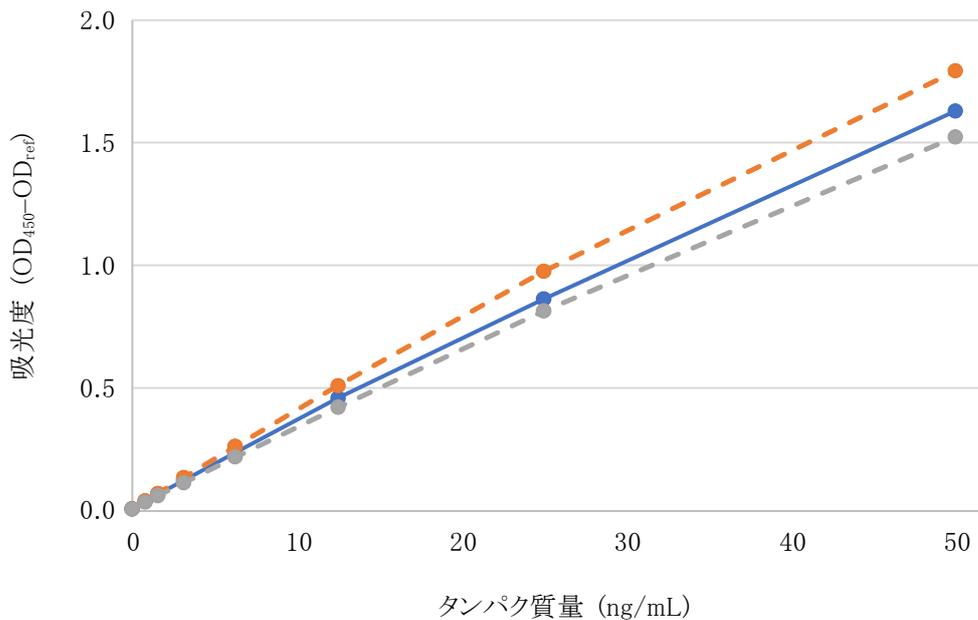


図14 モリナガ (BLG) キットを用いた測定における検量線

(Lot: 20MYSFBL036, 1機関および食薬センター2試験)

—●— 機関番号A    -○- 食薬センター1    -○- 食薬センター2

表13 外部精度管理調査研究で使用されたモリナガ (BLG) キットのロットおよび使用機関数

ロット	使用期限	使用機関数
20MYSFBL036	2021/5/7	1

表14 外部精度管理調査研究で使用されたモリナガ（カゼイン）キットのロットおよび使用機関数

ロット	使用期限	使用機関数
19NOSFCS079	2020/10/31	1
19DEFSCS080	2020/12/2	1
20JASFCS081	2021/1/7	1
20FESFCS082	2021/2/5	1
20MASFCS083	2021/3/4	1
20APSFCS084	2021/4/15	8
20MYSFCS085	2021/5/25	6
20JUSFCS086	2021/6/8	11

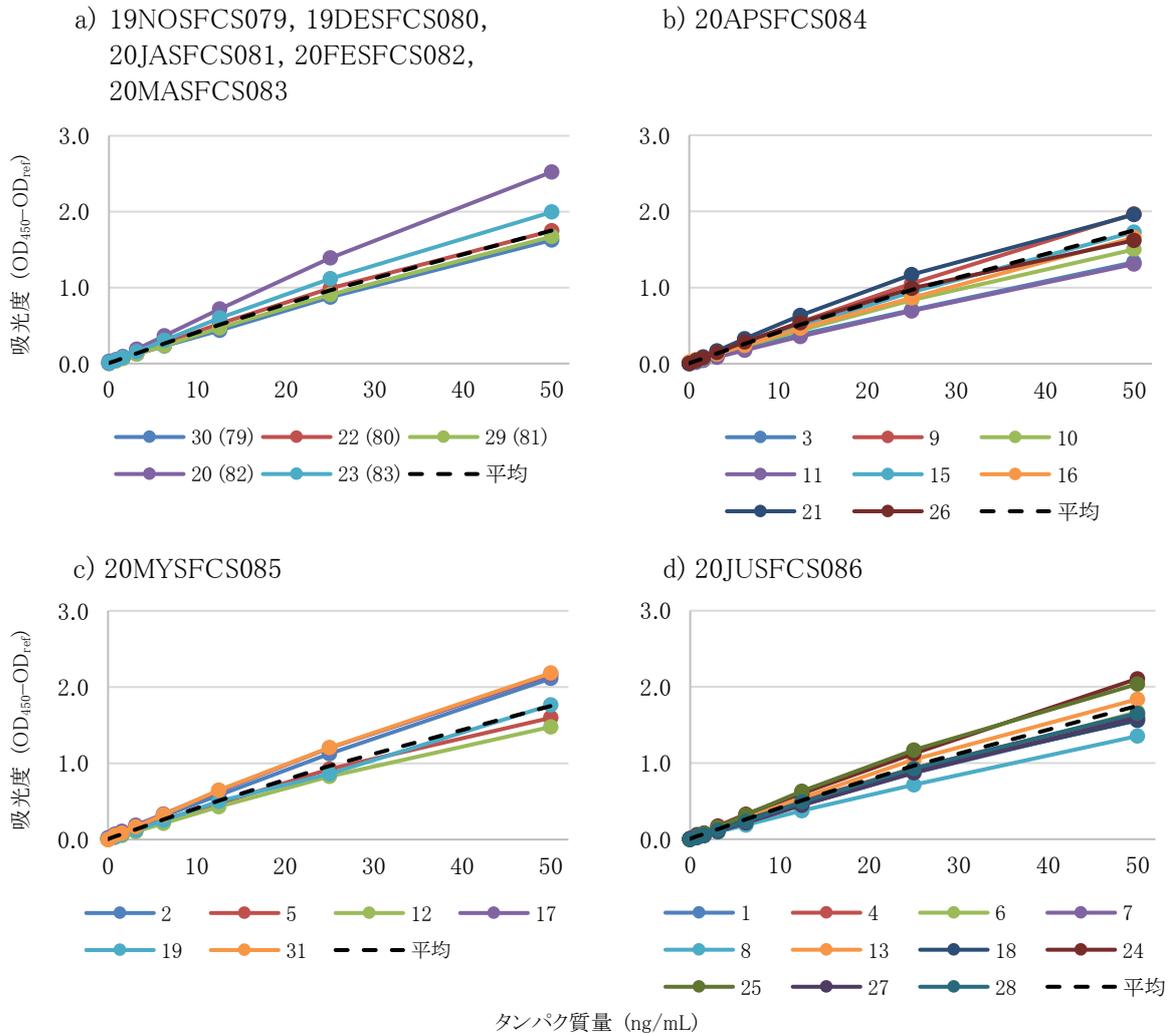


図15 モリナガ（カゼイン）キットを用いた測定におけるロット別検量線

表15 外部精度管理調査研究で使用された日本ハムキットのロットおよび使用機関数

ロット	使用期限	使用機関数
FKEM2055	2020/12	1
FKEM2056	2021/2	20
FKEM2057	2021/4	10

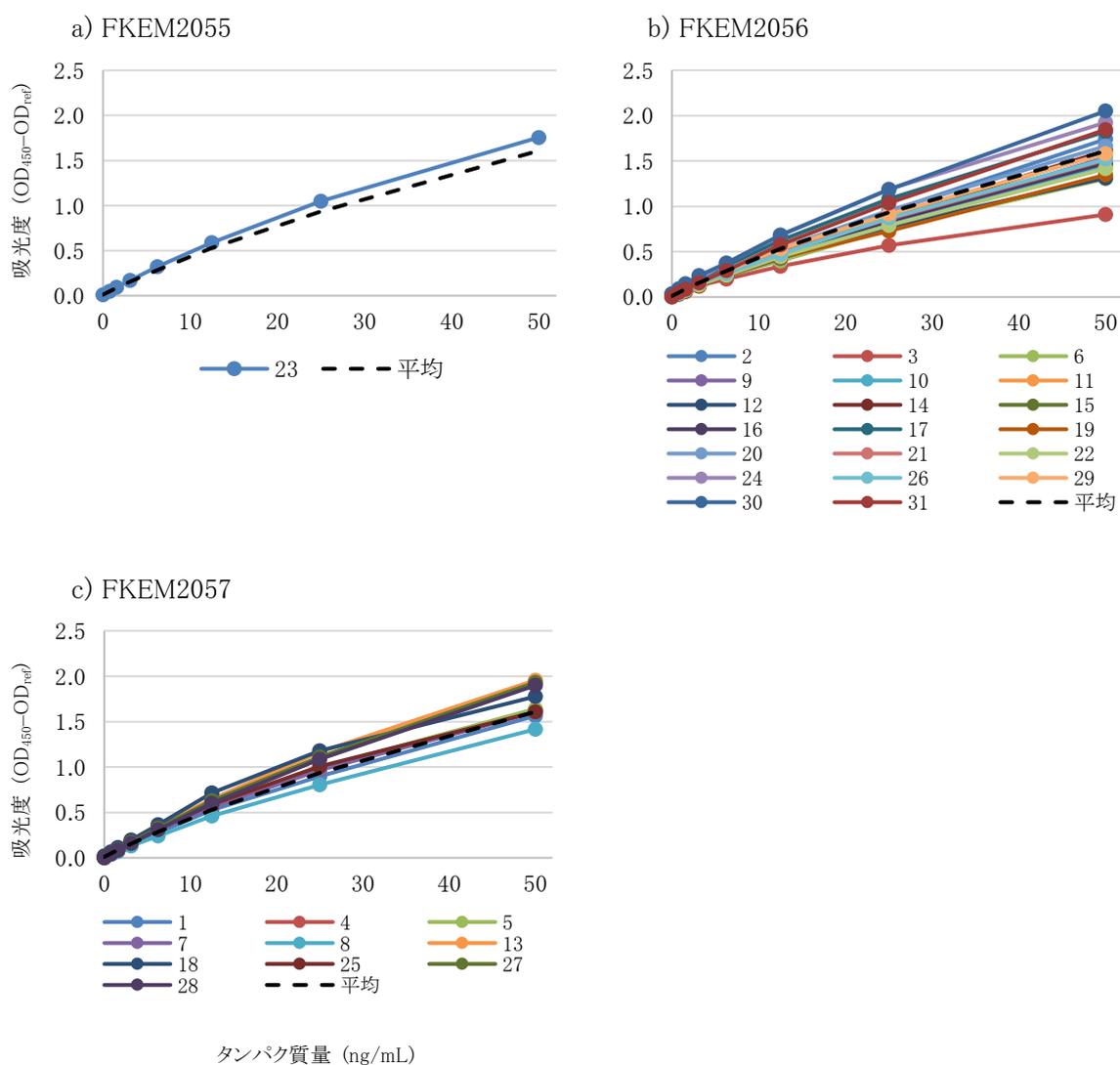
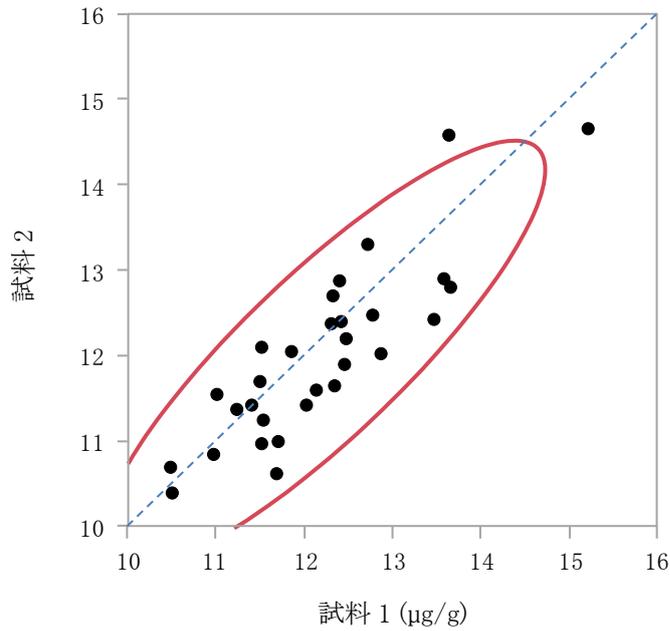


図16 日本ハムキットを用いた測定におけるロット別検量線

a) モリナガ (カゼイン) キット (30機関)



b) 日本ハムキット (31機関)

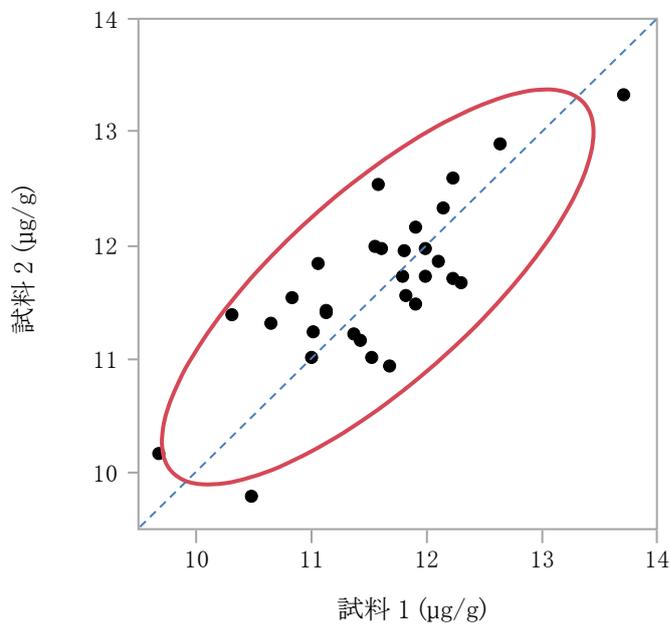
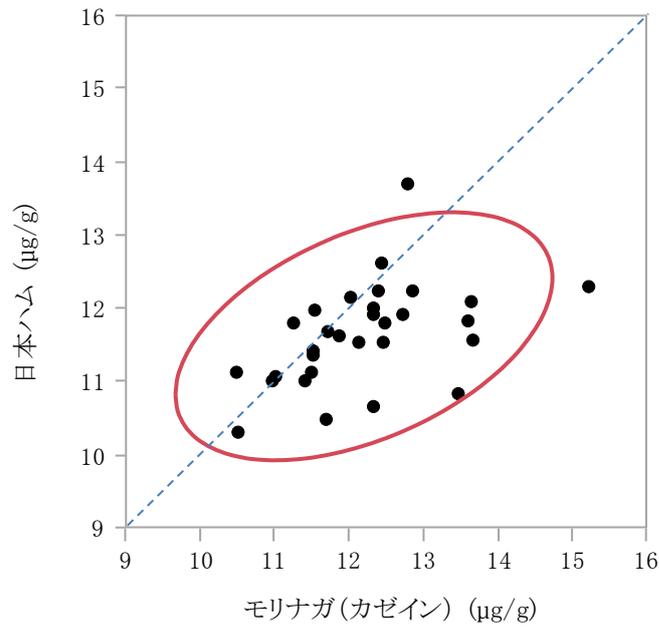


図17 同一キットにおける試料間の相関性

図中の楕円は95%の確率楕円を示す。点線は $y = x$

a) 試料1 (30機関)



b) 試料2 (30機関)

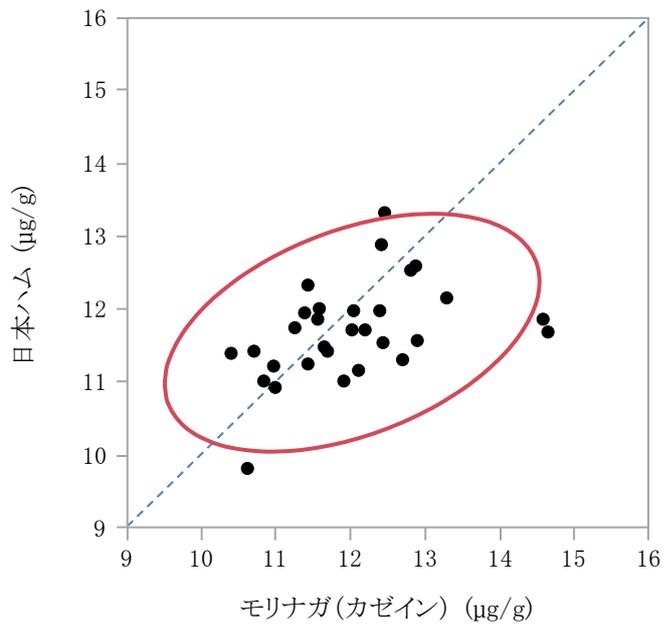


図18 同一試料におけるキット間の相関性

図中の楕円は95%の確率楕円を示す。点線は $y = x$

表16 令和2年度 外部精度管理調査研究における各機関の採用手法（全般）

項目	1	2	3	4	5	6
経験年数 <sup>a</sup>	0	1	2	3 - 5	6 - 10	10超
	6	7	4	8	3	3
抽出方法	振盪 31	その他 0				
振盪時間 (h)	12未満 0	12 - 16未満 9	16 - 20未満 18	20以上 4		
振盪速度 (rpm)	90未満 1	90 - 110 29	110超 1			
ろ過	実施 23	実施せず 8				
遠心分離	実施 31	実施せず 0				
抽出液等の 希釈操作	手動 28	自動 3				
試薬のプレートへの 添加	手動					
	連続分注					
	マルチch	シングルch	マルチch	自動	その他	
	2	2	21	3	3	
洗浄方法	手動 15	自動 16				
マイクロプレート リーダーのメーカー	TECAN 6	ThermoFisher 9	Corona 5	Bio-Rad 7	その他 4	
検量線の 回帰法	4PL <sup>b</sup> 30	5PL <sup>c</sup> 1 <sup>d</sup>				

(31機関)

- a 担当者複数の場合、長い方の年数  
b 4PL:4パラメーターロジスティック  
c 5PL:5パラメーターロジスティック  
d Microplate Manager, Version 5.2, Bio-Rad

表17 令和2年度 外部精度管理調査研究における各機関の操作手法（キット別）

a) モリナガ（カゼイン）キット（30機関）、使用ロット数 8ロット

項目	1	2	3	4	5
抽出液の 保存期間（日）	0	1	2	3-7	>7
抽出液の 保存条件	室温	冷蔵	冷凍		
試料添加時間 （分）	10以内	10-20以内	20-30以内	30超	
操作中の室温 （範囲）	20°C未満	20-30°C	30°C超		
	24	2	2	1	1
	2	3	1		
	24	4	2	0	
	0	30	0		

b) 日本ハムキット（31機関）、使用ロット数 3ロット

項目	1	2	3	4	5
抽出液の 保存期間（日）	0	1	2	3-7	>7
抽出液の 保存条件	室温	冷蔵	冷凍		
試料添加時間 （分）	10以内	10-20以内	20-30以内	30超	
操作中の室温 （範囲）	20°C未満	20-25°C	25°Cを挟む上下	25-30°C	30°C超
	20	9	1	0	1
	3	6	2		
	24	4	2	1	
	0	22	5	4	0

表18 2019年度の特定原材料6種（卵、乳、小麦、そば、落花生、甲殻類）の検査実績  
種類数

	特定原材料6種中の実施種類数						
	0	1	2	3	4	5	6
実施機関数	4	0	1	6	3	4	9

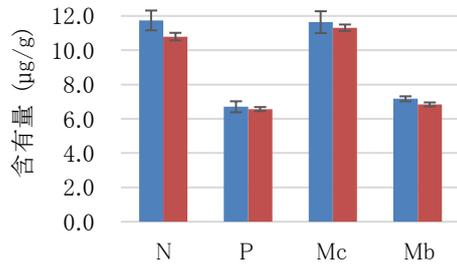
(回答27機関)

表19 2019年度の参加機関の検査実績および使用キット

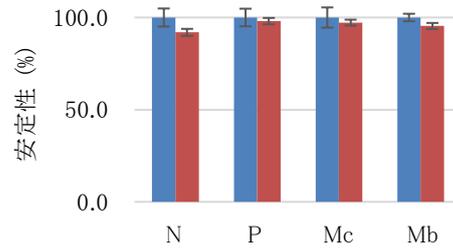
試験区分		特定原材料					
		卵	乳	小麦	そば	落花生	甲殻類
ELISA	実施機関 (27機関)	21	22	21	15	15	12
	総試験数	762	703	702	522	508	294
		(21.8%)	(20.1%)	(20.1%)	(15.0%)	(14.6%)	(8.4%)
	陽性検出機関 (27機関)	4	4	8	3	2	3
	検出試験数	13	11	17	8	3	10
	使用キット [複数回答] (30機関)						
	日本ハム	23	23	24	17	17	—
	モリナガ	24	26	25	18	18	—
	プリマハム	0	0	1	0	1	—
	ニッスイ	—	—	—	—	—	14
	マルハ	—	—	—	—	—	13
確認試験	実施機関 (27機関)	1	1	5	1	1	1
	総試験数	1	1	6	1	1	4
	陽性検出機関 (27機関)	1	1	4	1	0	1
	検出試験数	1	1	4	1	0	4

a) ベビーフード鮭+スキムミルク

i) 含有量

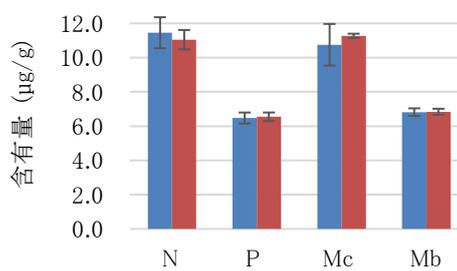


ii) 安定性

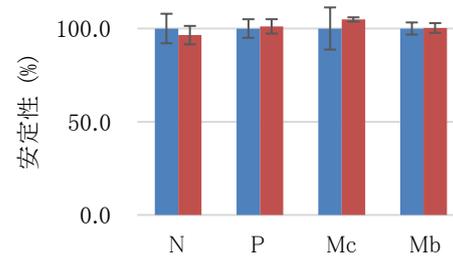


b) ベビーフード鮭+全粉乳

i) 含有量

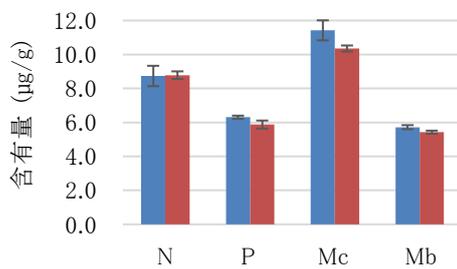


ii) 安定性

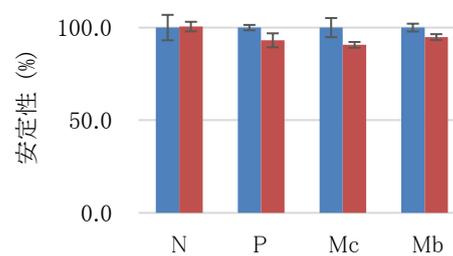


c) ともろこしペースト+スキムミルク

i) 含有量

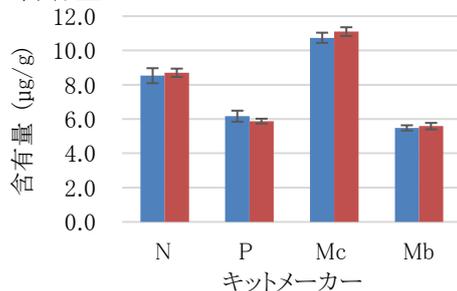


ii) 安定性



d) ともろこしペースト+全粉乳

i) 含有量



ii) 安定性

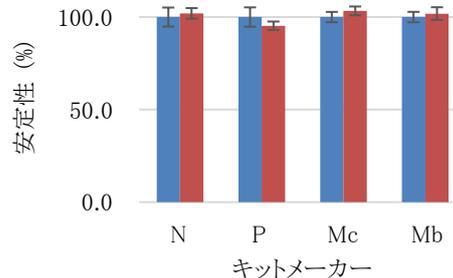


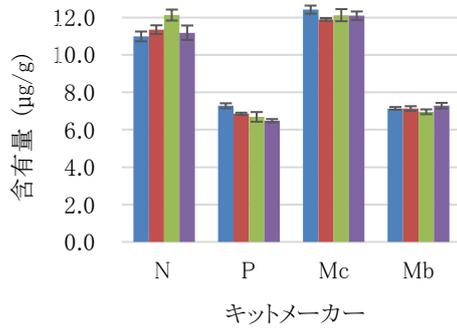
図19 添加用乳タンパク質検討4試料の6か月安定性

■ 0か月 ■ 6か月

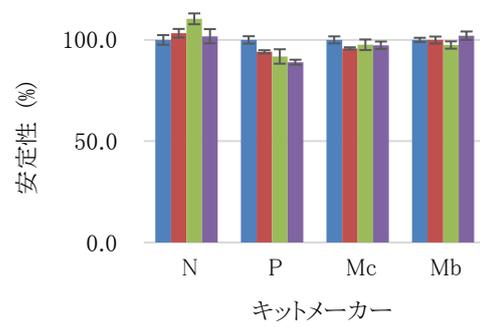
N : 日本ハム, P : プリマハム, Mc : モリナガ (カゼイン), Mb : モリナガ (BLG)

a) ベビーフード+スキムミルク

i) 含有量

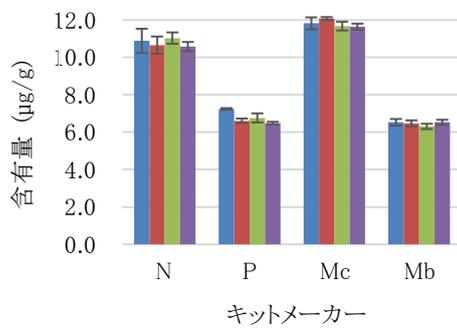


ii) 安定性



b) こしあん+スキムミルク

i) 含有量



ii) 安定性

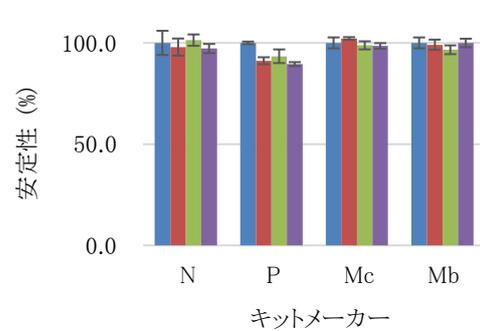


図20 外部精度管理調査予備検討用試料の含量及び安定性の経時的変化

■ 0か月 ■ 1か月 ■ 3か月 ■ 6か月 (Mbは8か月)

N: 日本ハム, P: プリマハム, Mc: モリナガ(カゼイン), Mb: モリナガ(BLG)

## 補足資料

### 令和2年度 特定原材料検査外部精度管理調査研究参加機関

青森県環境保健センター  
宮城県保健環境センター  
千葉県衛生研究所  
東京都健康安全研究センター  
川崎市健康安全研究所  
新潟市衛生環境研究所  
石川県保健環境センター  
長野県環境保全研究所  
長野市保健所 環境衛生試験所  
地方独立行政法人 大阪健康安全基盤研究所  
愛知県衛生研究所  
豊田市衛生試験所  
岐阜県保健環境研究所  
滋賀県衛生科学センター  
京都市衛生環境研究所  
神戸市環境保健研究所  
三重県保健環境研究所  
福岡市環境局保健環境研究所  
佐賀県衛生薬業センター  
宮崎県衛生環境研究所  
公益社団法人日本食品衛生協会 食品衛生研究所  
一般財団法人食品分析開発センターSUNATEC  
一般財団法人 広島県環境保健協会  
コープデリ生活協同組合連合会  
株式会社関西環境センター  
株式会社 生活品質科学研究所 中央研究所  
株式会社 生活品質科学研究所 関西総合検査センター  
株式会社三遠食品分析センター  
オリエンタル酵母工業株式会社  
キューピー株式会社  
森永乳業株式会社