

令和4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

－アレルギー物質技能試験プログラムに関わる検討（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
研究協力者	穂山 浩	星薬科大学 薬学部 薬品分析化学研究室	教授
研究協力者	伊藤 里恵	星薬科大学 薬学部 薬品分析化学研究室	准教授
研究協力者	内田 華那	星薬科大学 薬学部 薬品分析化学研究室	
研究協力者	細谷 まい	星薬科大学 薬学部 薬品分析化学研究室	

研究要旨

食物アレルギーは特定の食物に対する生体反応であるが、その原因となる食物アレルゲンは、疫学的研究の結果、食生活の変化に対応して年々変化しており、それに伴って表示義務のある特定原材料及びそれに準ずるものについては随時見直しが行われている。

食品衛生検査施設等においてはELISA法により特定原材料のスクリーニングを行っているが、施設間差については、個々の施設で確認することは難しい。試験技能を確認するために外部精度管理調査を行う必要があるが、その際、使用する試料の品質が重要となる。

本年度のパイロットスタディでは1つの基材に2種の特定原材料を添加した試料を作製（基材：かぼちゃペースト、特定原材料：卵及び乳）し、ELISA法により外部精度管理調査研究を行った。参加機関は24機関で、公定法と各機関の標準操作手順書に則り試験を行うこととした。参加機関からの結果は試料、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、ロバスト方式を用いて統計値を算出し、それらの数値から z -スコアを算出した。また、 \bar{X} - R 管理図による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、 z -スコアの絶対値が3以上となる機関は各解析ごとに0～2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2機関認められた。 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、より実際の検査に近い試料を開発する目的で市販品からの incurred sample の調製を行い、作製した試料の均質性および複数施設間での再現性について確認した。

A. 研究目的

食物アレルギーは特定の食物に対する生体反応であるが、その原因となる食物アレルゲンは、疫学的研究の結果、食生活の変化に対応して年々変化していることが報告されている。この結果に合わせて新しい特定原材料及びそれに準ずるものについて追加の指定が行われる。追加指定された食物を取り扱うメーカーでは表示義務に従う必要がある。しかしながら、特に加工食品中の特定原材料の有無に関する正しい評価が行われない場合、適切な食品表示が行われないばかりでなく、消費者の健康被害を引き起こす結果ともなる。そして、国民に対する健康被害と国民への豊かな食生活の提供という2つのバランスをとるためにも、食品中の特定原材料について正確に評価すること必須である。

加工食品において表示義務のある特定原材料のスクリーニング試験としてのELISA法による定量試験及び確認試験としてのPCR法またはウェスタンブロッティング法による定性試験については消費者庁次長通知「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「アレルゲン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。

ELISA法で使用されるキットについては通知に準拠したものが市販されており、検査施設ではそれらのキットを用いて試験を行っているが、実際に測定した値について施設間差があるかどうかは個々の施設では確認することは難しい。

各施設における試験技能を確認するために、外部精度管理調査を行う必要があるがそこで使用する試料の品質が確保されていないと、外部精度管理自体が成立しない。したがって、外部精度管理調査のための適切な試料を確保することは非常に重要である。

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、特定原材料である卵と乳の2種類を同時に添加した試料の作製を行い、参加機関から回収したデータの解析を行った。

また、通常検査機関が取り扱う加工食品中の特定原材料はその加工過程において加熱処理等の操作がなされていること、また、より通常の検査で取り扱う試料に近づけるため、市販食品からのincurred sample作製を試みた。

B. 方法

1. 試薬及び食品

タンパク質含量は、2-D Quant Kit (Cytiva)により測定した。

パイロットスタディの試料に用いる基材は、かぼちゃペースト（新進）を使用した。

特定原材料として、卵は乾燥全卵（乾燥全卵 No. 1、キューピータマゴ）を、乳はスキムミルク（生化学用、富士フィルム和光純薬工業）を使用した。

実試料（incurred sample）のスクリーニングにはいずれも特定原材料表示のある食品から、卵検出用として24食品、乳検出用として8食品を供試し、外部精度管理調査試料を想定したincurred sample調製には、卵検出用としてコーンスロートレッシング（CoD）を、乳検出用として

クッキーを用いた。

2. ELISA法

特定原材料の検出には、通知法に準拠したELISAキットを使用した。また、通知法準拠ではないが、乳については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) 卵タンパク質検出用キット

- FASTKITエライザVer. III 卵(日本ハム) [以下、日本ハム卵キット]
- FASPEK エライザII 卵 (卵白アルブミン)(森永生科学研究所) [以下、モリナガ卵キット]
- アレルゲンアイELISA II 卵 (オボアルブミン)(プリマハム) [以下、プリマハム卵キット]

2) 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、日本ハム乳キット]
- FASPEK エライザII 牛乳(カゼイン)(森永生科学研究所) [以下、モリナガ乳キット]
- アレルゲンアイELISA II牛乳(β -ラクトグロブリン)(プリマハム) [以下、プリマハム乳キット]

通知法非準拠

- 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(β LG)キット]

3) 試験操作

ELISA法は各キットの取扱説明書に従った。

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。また、検量線外のデータについては検量線から得られた4パラメーターロジスティック(4PL)の式から外挿を行った。

3. パイロットスタディ用外部精度管理調査試料の作製

1) 基材の確認

基材のかぼちゃペーストは、ELISA法により、標的タンパク質である卵および乳が検出限界(基材中0.31 $\mu\text{g/g}$)以下であることを確認した。

2) 各種添加溶液の調製

i) 添加用卵タンパク質の調製

乾燥全卵を精製水と十分懸濁し、これを添加用卵タンパク質調製液とした。

ii) 添加用乳タンパク質の調製

スキムミルクを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20 mL添加し、室温下で1晩振盪した。懸濁液は遠心(10,000 \times 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。

ii) タンパク質量の測定

作製した卵タンパク質調製液及び乳タンパク質調製液のタンパク質量は、2-D Quant Kitにより測定した。各調製液中のタンパク質量及び基材への添加量を算出した。

3) 外部精度管理調査試料の調製

基材のかぼちゃペーストに添加用卵タンパク質溶液および添加用乳タンパク質溶液をそれぞれ総タンパク質量で10.0

µg/gとなるようにを添加した。それをロボ・クーブブリクサー5プラス（エフ・エム・アイ）を用いて均質化し、試料とした。

作製した試料は小分けにした後、-20°Cで凍結保存し、これをパイロットスタディ用試料とした。また、この試料について均質性および安定性の確認を行った。

4. 市販品からの外部精度管理調査試料 (incurred sample) の調製

原材料表示において卵又は乳の表示順位の低い市販食品を入手し、粉碎、又は原体を十分均一になるよう調製した。ELISA法で標的特定原材料の含有量を測定することでスクリーニングを行った。

ELISAキットは卵検出にはモリナガ卵キット、乳検出にはモリナガ乳キットを用いた。

スクリーニング結果から卵検出用にはCoD、乳検出用にはクッキーを選択した。適当な媒体でカットオフ値である10 µg/g付近となるよう調製し、これをincurred sampleとした。卵検討用では、卵含有量を測定したCoDを卵不含のCoDで3倍希釈することで、試料中の卵濃度を調整した。乳検討用では、乳含有量を測定したクッキーに精製水を適量加えて試料中の乳濃度を調製した（クッキー：精製水=3：2）。

また、濃度調整の際、ロット間差についても検討した。卵検出系ではの卵含有CoD 3ロットと卵不含のCoD 3ロットを組み合わせて、9種類の検討用試料を作製し、ELISAの反応性について検討した。乳検出系については選択したクッキーにつ

いて12ロット入手し、これらの検討を行った。

なお、incurred sampleの検討は2施設で行った。施設1では試料のスクリーニングおよび試料作製（含量測定あり）を行い、施設2では施設1で得られた結果の再現性確認と均質性試験を行った

5. 品質評価方法

1) パイロットスタディ用試料

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、試料送付前（試料作製後1か月以内）に行った。各試料つき、それぞれ $n=10$ でサンプリングを行い、各サンプルについて $n=1$ でELISA法による卵または乳タンパク質濃度を測定した。平均値、標準偏差（SD）、相対標準偏差（RSD）を算出した後、均質性について判断した。

また、安定性は調査期間後（試料作製後4か月）に $n=4$ で試料を測定し、各キットについて均質性試験における乳タンパク質含有量に対する数値を計算し、安定性を評価した。

パイロットスタディ用試料については均質性試験および安定性試験は「2. ELISA法」に記載の卵検出用3キット、および乳検出用4キットについて行った。また、使用したキットはすべて使用期限内であり、均質性試験と安定性試験で同ロットを使用した。

2) Incurred samples

Incurred samplesの品質評価として均質性の確認を行った。

均質性確認では各試料つき、それぞれ $n=10$ でサンプリングを行い、各サンプル

について $n=2$ でELISA法による卵または乳タンパク質濃度の測定を行った。均質性の評価はIUPACに従った¹⁾。

Incurred samplesのELISA法には卵または乳の検出にモリナガ卵キットまたはモリナガ乳キットを用いた。

6. 外部精度管理調査の実施

調査に参加した24機関へは調査試料と実施要領を宅配便（冷凍）により送付した。

測定は、通知法に従い、原則として、卵、乳ともに、日本ハムキットとモリナガキットの2種類を使用することとした。

試験操作は通知法及び各機関の標準操作手順書（SOP）に従うこと、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。報告書は試料送付後、約1か月後を期限とした。

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」には、異なるキットを評価する場合の注意として「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」との記載がある。このため、参加機関から報告された値は、試料別、測定キット別にロバスト平均値を算出し、これを付与値として解析を行った。

データ解析として、1) メジアン \pm 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）を行う、2)

Huberのproposal 2^{1,2)}に基づいた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] により、各種統計量を算出する、3) \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て評価を行う、3ステップを行った。

また、 \bar{X} 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 \pm 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SDを用いて算出した。

更に、アンケート結果をとりまとめ、検討を加えた。

(倫理面への配慮)

基材、添加特定原材料ともい食材であるが、調査試料であることから、試料の残余や廃棄物は速やかに焼却処分とした。

各機関へ送付した外部精度管理調査試料については、検査終了後の保管および廃棄は、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. 外部精度管理調査に関わるパイロットスタディ

1) 外部精度管理調査試料の品質評価

均質性試験の結果（表1）、卵検出系では含有量が9.25~11.92 $\mu\text{g/g}$ とキット間で若干の差が認められた。

一般的に、ELISA法におけるキット間の検出感度の違いの主な原因としては抗原の違いや、基材による影響が知られてい

る。また、ロット間差も要因の一つと考えられる。しかしながら、本試験においては含有量の差は抗原の違いに起因するのか、基材に由来するのかは不明であった。

また、乳検出系では、カゼインを抗原とするモリナガ乳キットと、カゼイン、 β -ラクトグロブリンを含む複合抗原を用いている日本ハム乳キット³⁾では高値（10.63～12.43 $\mu\text{g/g}$ ）を、 β LGを抗原としているプリマハム乳キットとモリナガ（ β LG）キットでは低値（6.31～6.75 $\mu\text{g/g}$ ）を示した。したがって、この明らかな値の差は、抗原による差と考えられた。また、モリナガ乳キットは日本ハム乳キットよりも若干高い値を示したが、何に起因するのかは不明であった。

均質性の評価に関わるRSDは卵検出系では1.2～2.3%、乳検出系では2.9～3.5%と、いずれも5%以下であり、さらに、キット間、標的たんぱく質間ともに大きな差は認められなかった。したがって、いずれの系においても均質と判断した。

安定性は、均質性試験での結果を100%として算出した（表2、表3）。卵および乳検出系において安定性は、それぞれ99.7～102.3%および95.8～105.1%の範囲であり、当該試料は調査期間中、安定であったと判断した。

3) 外部精度管理調査結果（回収データの集計結果）

参加24機関（1機関は乳検出系のデータのみを提出）の報告値を特定原材料別かつ測定キット別に集計し、統計解析を行った。

結果は表4に、データ分布は図1に示した。

卵検出系、乳検出系ともに各機関の測定値から算出した平均は、どのキットにおいても均質性試験の平均値とほぼ同じ値を示した。RSDは、検出系に関わらずモリナガキットで約6.5%、日本ハムキットで約13%とキットのメーカー間で差が認められた。

4) 個別集計結果

(1) 卵検出系キット

卵検出系キットを用いて測定した23機関のデータから算出された統計量を表5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、モリナガ卵キットおよび日本ハム卵キットの結果および評価一覧を表6および表7に記載した。

a) モリナガ卵キットの解析結果

モリナガ卵キットの測定において、MCで除外された機関はなかった。全機関のロバスト平均 \pm SDは9.62 \pm 0.63 $\mu\text{g/g}$ （RSD 6.55%）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〔表6および図3 a)〕。 R 管理図では1機関が上部管理限界線を超えていた〔機関番号7、表6および図3 b)〕が、日本ハム卵キットおよび乳検出系では管理限界線内であったことから、基本操作ではなく、個別操作に問題があったと考えられる。

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〔機関番号13、表6および図5 a)〕。当該機関はモリナガ乳キットにおいても z -スコアの絶対値が3以上を示した。

b) 日本ハム卵キットの解析結果

日本ハム卵キットの測定において、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 \pm SDは10.64 \pm 1.35 $\mu\text{g/g}$ （RSD 12.69%）であった。 \bar{X} 管理図では2機関が管理限界線を超えていた〔機関

番号16および機関番号18、表7および図4 a)]。両機関とも他の3キットでは \bar{X} 管理図および z -スコアともに範囲内であったことから、外れ値は個別操作に起因するものと考えられた。

R 管理図では1機関が上部管理限界線を超えていた [機関番号4、表7および図4 b)]。当該機関は報告値の1つで3ウェル間のRSDが20 %以上であった [図10 b)]。この機関は日本ハム乳キットにおいても報告値の片方で、3ウェル間のRSDが20 %を超えていた [図10 d)]。同機関は試料の調製において遠心分離およびろ過を実施していなかった。供試した試料は抽出液中で懸濁となるため、不均一な粒子が影響した可能性も考えられたが、モリナガキットにおいては卵、乳ともRSDは低かったことから、日本ハムキット特有の操作に起因することも考えられた。通知法では「ELISA法を用いて得られた測定結果において、3ウェル間のCV値（本報告書中のRSDに相当）が20 %以上を示した場合には、再度ELISA操作以降の操作を行う。」との記載があることから、RSDが規定の数値以上である場合は、正確な評価のためにも、再試験の実施も必要と考える。

日本ハム卵キットの解析において、 z -スコアの絶対値が3以上の機関は認められなかった [表7および図5 b)]。

(2) 乳検出系キット

乳検出系キットを用いた24機関のデータから算出された統計量を表8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、モリナガ乳キットおよび日本ハム乳キットの結果および評価一覧を表9および表10に記載した。

a) モリナガ乳キットの解析結果

モリナガ乳キットの測定において、MCで除外された機関は認められなかった。全機関のロバスト平均値 \pm SDは 12.85 ± 0.83 $\mu\text{g/g}$ (RSD 6.46 %) であった。 \bar{X} 管理図、および R 管理図で管理限界線外の機関は認められなかった (表9および図7)。

z -スコアの絶対値が3以上の機関は2機関認められた [機関番号1および機関番号13、表9および図9 a)]。機関番号1は他の3キットでは z -スコアに問題がなかったことから、外れ値は個別操作に起因するものと考えられた。機関番号13はモリナガ卵キットでも z -スコアの絶対値が3以上であったが、日本ハムキットでは、卵検出系、乳検出系ともに z -スコアに問題は認められなかった。したがって、外れ値はモリナガキットの操作過程に起因する可能性が考えられた。

b) 日本ハム乳キットの解析結果

日本ハム乳キットを用いた24機関において、MCで除外された機関は認められなかった。全機関のロバスト平均値 \pm SDは 10.81 ± 1.39 $\mu\text{g/g}$ (RSD 12.86 %) であった。 \bar{X} 管理図、 R 管理図で管理限界線外となった機関は認められなかった (表10および図8)。

また、 z -スコアの絶対値が3以上の機関も認められなかった [表10および図9 b)]。

(5) キットのロットと測定値について

本調査研究では、キットのロットは指定していないことから、各キット、複数のロットが使用された。ロットと報告値の関係については図11に示した。今回の調査研究では、モリナガキットにおいて卵、乳ともに8ロット (モリナガ卵キットではそのほかにロット不明1機関)、日本ハムキットにおいてはともに4ロットと複数のロットが

使用されていた。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。そして、すべてのキットにおいてロット間に顕著な差は認められなかった。

報告値の範囲は、卵、乳検出系ともに4ロット使用した日本ハムキットで8ロット使用したモリナガキットより広がった。そしてRSDが10%以上となった日本ハム卵キットでは σ スコアの外れは認められなかったが、30%を管理限界とした $Xbar$ 管理図において外れ値が認められる結果となった。

(6) 検量線について

各キットの検量線について、卵検出系は図12～図15、表11および表12に、乳検出系は図16～図19、表13および表14に示した。

卵検出系におけるモリナガ卵キットでは検量線の平均値およびSDを基にして得られた95%信頼区間から外れた機関は1機関（機関番号12）であった。同機関は他の3キットにおいても95%信頼区間の上限を外れた、もしくはほぼ上限に位置しており、他機関と比較して本研究においては常に高めの吸光度を示していた。また当該機関の σ スコアの絶対値は全て3未満であったが、その測定値は全機関中、常に低めであった。他にも95%信頼区間の上限および下限付近の機関はあったが、その σ スコアの絶対値は3未満であった。

日本ハム卵キットでは、上記の機関番号12に加え、機関番号1も95%信頼区間の上限に近い位置であった。しかしながら、どちらの機関も σ スコアの絶対値は1未満であった。機関番号4は高濃度で95%信頼区間の下限を外れており、線形が乱れていた。この機関は検量線の3高濃度においてRSDが16～24%と高く、前出の通り測定値の3ウェル間のRSDも高値を示していた（ σ スコアの絶対値は1.5未満

であったが、 R 管理図では外れ値を示した）。さらに、日本ハム乳キットにおいても中間濃度で95%信頼区間の下限付近を示し、線形も乱れていた。検量線ではRSDが15%を超える濃度もあり、試料の測定値におけるRSDも高値を示し、試験操作が安定していないようであった。しかしながら、当該機関は、モリナガキットでは卵、乳検出系ともに、検量線の線形ならびにRSD、および試料の測定値のRSDも問題は認められなかった。したがって、今回の調査研究だけの問題であるのか、常時キット間で結果に差があるのかをこれまでの背景データ等により確認して、必要であれば、機関内で試験操作の見直しを行うことが重要であろう。

乳検出系におけるモリナガ乳キットでは検量線に関して前出の機関番号12のほかにも95%信頼区間の上限および下限に近い機関はあったが、その σ スコアの絶対値は1未満であった。

日本ハム乳キットでは前出の機関番号4および12のほかにも、機関番号1が95%信頼区間の上限を外れ、低濃度において線形が乱れていた（ σ スコアの絶対値は1.5未満）。同機関は全てのキットにおいて、検量線が常に上方に位置していた。

以上の結果から、 σ スコアについては検量線に由来するような問題は認められなかった。しかしながら検量線が他機関と比較して恒常的に上方または下方に位置しており、かつ、 σ スコアが全体に対して常にどちらかに偏っている場合は、これまでの結果を確認するとともに、今後の外部精度管理調査の結果にも注意が必要だろう。

(7) 報告値の相関性

卵または乳検出系におけるモリナガキットと日本ハムキット間の報告値の相関を図20に示

した。

卵検出系では7割程度の機関で日本ハムキットの報告値がモリナガキットの報告値より高値を示した。

乳検出系では1機関を除く23機関でモリナガキットにおいて日本ハムキットよりも高値を示した。

また、卵検出系において日本ハムキットでは測定値が7～13 $\mu\text{g/g}$ と約6 μg の範囲に分布、モリナガキットでは7.5～10.5 $\mu\text{g/g}$ と約3 μg の範囲に分布していた。乳検出系では、日本ハムキットでは約4 μg の範囲に、モリナガキットでは約5 μg の範囲に分布していたが、モリナガキットで広範囲となったのはZスコアの絶対値が3以上である測定値が95%確率楕円に含まれていたため、その点を除くと約3 μg の範囲となり、卵同様、日本ハムキットの方がモリナガキットよりも広範囲に分布していた。

5) 回収データの確認

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および報告書の記載内容の確認を行った。その結果、報告書のデータの記載ミスが数件認められた、大きな問題は認められなかった。提出データの書式は、各機関の報告書作成方式と違うことから、確認ミスが起こったと考えられるが、必要な記載を正確に行うことはデータの信頼性にもかかわるため、データを提出するまでが外部精度管理であることを再確認して、正しい測定のみならず正しいデータの提出のための体制を確立していただければ、と考える。

6) 検査手法のまとめ

各機関が検査に用いた手法を表15および表16に示した。担当者の経験年数は2年以内が5割程度であり、これまでの調査研究同様、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2機関で認められた。

検査手法では全機関が振とう機による抽出を実施、振とう時間は12-20時間であった。ろ過は2/3の機関が、遠心は1機関以外すべての機関が実施していた。遠心を行っていなかった機関は、ろ過も行っていなかった。試薬のプレートへの添加では、手動で行った機関のほとんどはマルチチャンネルピペットを使用していた。

検量線の近似曲線の計算は全ての機関が推奨されている4パラメーターロジスティック(4PL)を使用していた。

ピペット校正を年に1回以上行っている機関は全体の2/3以下であったが、天秤の校正はほとんどの機関が年に1回以上行っていた。ELISA試験は微量の操作が重要であるため、ピペットおよび天秤の校正を適宜行うことは必要と考える。

試験に用いられた4種のキット間で、操作方法に大きな違いは認められなかった。

抽出液については、多くの機関が抽出当日に使用しており、次に多かったのが1日保存であった。提出された記録から、抽出日に試験を行わなかった機関では、多くの場合、2キット分の抽出を同時に行い、測定はキットごとに日にちをずらして行っていた。抽出液を保存する際の条件は、冷蔵が多く、長期保存では冷凍保存を行っていた。本調査研究では \bar{X} 管理図またはZスコアにおける外れ値と保存日数には明確な関連は認められなかった。

操作全般を通し、 \bar{X} 値、 R 値およびZ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

参考としてアンケートで回答のあった参加機関における検査実績（2021年度）を表17および表18にまとめた。

検査項目については、卵、乳、小麦、そば、落花生、甲殻類（えび、かに）の特定原材料6種中、昨年度の実績が0種類から全種類（6種類）の機関数は1～5機関であり、試験項目数の極端な偏りは認められなかった。

ELISA法では、18機関の総実施件数は18,000件ほどで、各特定原材料の試験件数は甲殻類を除く5種についてそれぞれが全体の17～20 %程度であり、甲殻類のみ10 %程度であった。

ELISA法による18,220試験中、陽性と判定された試験数は2092試験（11.5 %）であった。また、実施された確認試験77試験において陽性は22試験（28.6 %）であった。確認試験は小麦が23件と最も多かったが、陽性となった検体数は5件であった。一方、甲殻類では19件中10件と半数以上が、陽性であった。

2. Incurred samplesの検討

1) 卵含有試料

卵含有incurred sample作製のため、スクリーニングを行った24試料の結果を表19、a)に示す。24試料中6試料が50 $\mu\text{g/g}$ 未満で卵が検出された。卵含有量及び取り扱いやすさから、CoDをincurred sampleとして調製を行った。試料中の卵濃度は原材料に卵の表示のないCoDを用いて希釈して調整した。調整に際し、ロット間差を確認するために、卵含有CoDおよび卵不含CoDともに3ロットずつを組み合わせ、調整後の卵含有量を測定したところ、どの組み合わせにおいても大きな差は認められず、安定した調製方法であると

考えられた[図21、a)]。incurred sampleは試料で調製し、施設2で、均質性試験を行った(表20)。施設1及び施設2でのELISA法による測定結果はほぼ等しい値を示し、複数施設間で安定した試験結果が得られることが確認された。また、均質性試験の結果、調製した試料は均質であることが示された。したがって、本研究で調製した卵検出用のincurred sampleは外部精度管理調査研究の調査試料として使用できる可能性が考えられた。

2) 乳含有試料

卵含有incurred sample作製のため、スクリーニングを行った8試料の結果を表19、b)に示す。8試料中乳含有量がカットオフ値である10 $\mu\text{g/g}$ 以上であり、調製のしやすさからクッキーをincurred sampleとして調製を行った。

試料としての扱いやすさを考え、乳濃度の調製には精製水を用いて、流体試料とした。

また、クッキーのロット間差について確認した結果、最高で2倍近くの差が認められ、ロットにより乳含量に差があることがわかった(図21)。したがって調製時には、十分均質化を行った。Incurred sampleは、施設1において調製を行い、施設2で均質性試験を行った(表20)。施設1及び施設2でのELISA法による測定結果はほぼ等しい値を示し、複数施設間で安定した試験結果が得られることが確認された。また、均質性試験の結果、調製した試料は均質であることが示された。したがって、本研究で調製した乳検出用のincurred sampleは外部精度管理調査研究の調査試料として使用できる可能性が考えられた。

3) 外部精度管理調査試料としての incurred samples

今回調製したincurred samplesは複数の施設で安定した値が検出され、また、均質であ

ることが示されたため、今後は、食品表示における外部精度管理調査での調査試料としての適用を目指す。

調製した試料の品質評価においては安定性の確認がまだ十分になされておらず、今後の課題とされる。

食品表示における特定原材料検査では、ELISA法によるスクリーニングに関して外部精度管理調査が行われている。その際に使用するELISAキットは卵、乳ともに、今回、incurred sampleを調製に用いたキットのほか、2キットが通知法に準拠している。外部精度管理調査における実試料とするためには、これらのキットに対しての反応性も確認する必要がある。

さらに、市販食品は予告なく仕様が変更されたり、製造中止になったりすることがあり、また、生産ラインにより、標的食品中の特定原材料量が一定しない事も想定される。

例えば今回乳検出用のincurred sampleとして供試したクッキーのようにロット間差が大きい食品もあり、毎回、同じ食品を同じ方法で調製するだけでは、必ずしも、外部精度管理調査試料として適切な試料が得られるわけではないと考えられる。

しかしながら、実際に市場に流通している市販食品を使用することで、より実践に即した試料の提供が可能となるので、市販加工食品を使用したincurred sampleの外部精度管理調査への適用は重要であると考えられる。

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、1試料中に卵と乳、2つの特定原材料を添加した試料を作製

し、24機関を対象に実施した。

パイロットスタディでは参加機関から回収したデータをMC後、統計解析した。いずれの解析においてもMCによる除外機関は認められなかった。

得られたロバスト平均値およびSDから z -スコアを算出、また、 \bar{X} - R 管理図を代用した方法により評価を行った。

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以上となった機関は全体で延べ3機関であり、1機関では2試験系で z -スコアの絶対値が3以上であった。

また、 \bar{X} - R 管理図では管理限界線の範囲を超えた機関は2機関、 R 管理図で管理限界線を超えた機関は全体で2機関認められた。

また、市販食品を用いて外部精度管理調査のための試料としてincurred sampleの作製を行った。得られた2試料はどちらも均質性及び2施設間での再現性に問題がなく、外部精度管理調査研究の調査試料として使用できる可能性が考えられた。

F. 参考文献

- 1) The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemistry Laboratories (IUPAC Technical Report), Pure Appl. Chem., Vol. 78, No. 1, 145-196 (2006).
- 2) Analytical Methods Committee (1989): Robust statistics - How Not to Reject Outliers, Part 1. Basic concepts, Analyst, vol. 114, 1693-1697.
- 3) FAST NEWS Vol.1 (改訂第二版、2017)

G. 健康危険情報

なし

H. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

1) 細谷まい, 内田華那, 伊藤里恵, 若栗忍, 渡辺卓穂, 穂山浩: 外部精度管理調査研究のための卵タンパク質のアレルギー物質を含む実試料調製及び均一性試験, 日本薬学会第143年会(北海道) 2023

2) 内田華那, 細谷まい, 伊藤里恵, 若栗忍, 渡辺卓穂, 穂山浩: 外部精度管理調査研究のための乳タンパク質のアレルギー物質を含む実試料調製及び均一性試験, 日本薬学会第143年会(北海道) 2023

I. 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の結果

キットメーカー	含有量 ($\mu\text{g/g}$)			
	卵		乳	
	平均 \pm SD	RSD (%)	平均 \pm SD	RSD (%)
モリナガ	9.25 \pm 0.18	1.9	12.43 \pm 0.42	3.4
日本ハム	10.56 \pm 0.24	2.3	10.63 \pm 0.31	2.9
プリマハム	11.92 \pm 0.14	1.2	6.59 \pm 0.22	3.3
[参考] モリナガ (βLG)	—————		6.66 \pm 0.23	3.5

SD:標準偏差、RSD:相対標準偏差 n=10

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	含有量 ($\mu\text{g/g}$)			
	卵		乳	
	平均 \pm SD	RSD (%)	平均 \pm SD	RSD (%)
モリナガ	9.22 \pm 0.20	2.2	12.56 \pm 0.47	3.7
日本ハム	10.67 \pm 0.16	1.5	11.17 \pm 0.24	2.1
プリマハム	12.19 \pm 0.21	1.7	6.31 \pm 0.09	1.4
[参考] モリナガ (βLG)	—————		6.74 \pm 0.16	2.4

SD:標準偏差、RSD:相対標準偏差 n=4

表3 外部精度管理調査研究試料の調査期間中の安定性

キットメーカー	安定性 (%)	
	卵	乳
	平均 \pm SD	平均 \pm SD
モリナガ	99.7 \pm 2.2	101.0 \pm 3.8
日本ハム	101.0 \pm 1.5	105.1 \pm 2.2
プリマハム	102.3 \pm 1.8	95.8 \pm 1.3
[参考] モリナガ (βLG)	—————	101.2 \pm 2.3

SD:標準偏差

表4 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) 卵検出系

	モリナガ	日本ハム
データ数 (有効機能数)	23	23
平均値 (μg/g)	9.62	10.64
標準偏差 (μg/g)	0.63	1.35
相対標準偏差 (%)	6.55	12.69
添加量 (μg/g)	10.0	

2) 乳検出系

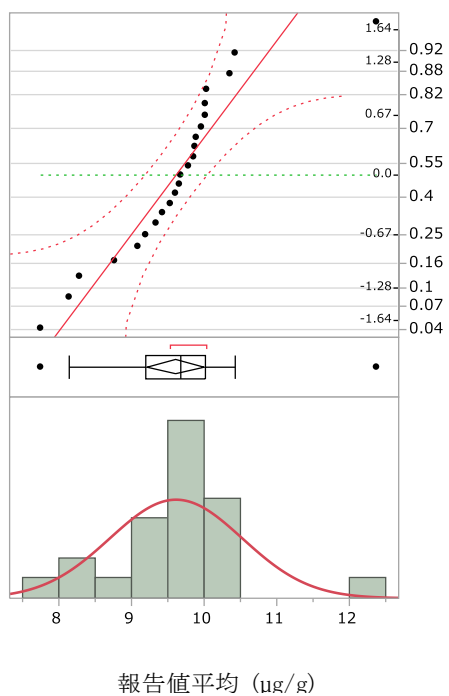
	モリナガ	日本ハム
データ数 (有効機能数)	24	24
平均値 (μg/g)	12.85	10.81
標準偏差 (μg/g)	0.83	1.39
相対標準偏差 (%)	6.46	12.86
添加量 (μg/g)	10.0	

表5 ELISA法による卵たんぱく質量測定結果の統計量一覧

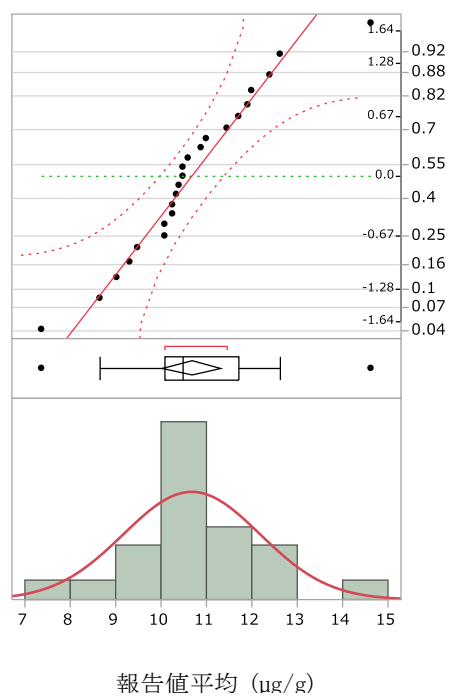
キットのメーカー名		モリナガ	日本ハム
統計量の種類		ロバスト方式	ロバスト方式
MCによる除外機関		0	0
データ（有効機関）数		23	23
測定 の 統計量*	平均値	9.62	10.64
	標準偏差	0.63	1.35
	相対標準偏差	6.55	12.69
	第1四分位数 (Q1)	9.195	10.075
	中央値 (メジアン)	9.68	10.48
	第3四分位数 (Q3)	10.01	11.715
	最大値	12.38	14.64
	最小値	7.745	7.36
	範囲	4.635	7.28
	四分位範囲	0.815	1.64
測定 の 差*	Rの平均	0.39	0.60
	上部管理限界	1.27	1.96

*：単位は相対標準偏差では%、それ以外では $\mu\text{g/g}$

a) モリナガキット



b) 日ハムキット



(機関数 23)

図2 卵検出用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6 モリナガキットによる卵検出の結果および評価一覧

機関 番号	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
19	7.83	7.66	7.745	満足	0.17	満足	-2.976	満足
14	8.31	7.97	8.140	満足	0.34	満足	-2.349	満足
15	8.32	8.25	8.285	満足	0.07	満足	-2.119	満足
12	8.87	8.66	8.765	満足	0.21	満足	-1.357	満足
11	9.06	9.13	9.095	満足	0.07	満足	-0.833	満足
21	9.05	9.34	9.195	満足	0.29	満足	-0.675	満足
4	9.89	8.80	9.345	満足	1.09	満足	-0.437	満足
20	9.34	9.51	9.425	満足	0.17	満足	-0.310	満足
3	9.29	9.79	9.540	満足	0.50	満足	-0.127	満足
10	9.72	9.51	9.615	満足	0.21	満足	-0.008	満足
18	9.91	9.41	9.660	満足	0.50	満足	0.063	満足
5	9.90	9.46	9.680	満足	0.44	満足	0.095	満足
9	9.60	9.98	9.790	満足	0.38	満足	0.270	満足
22	10.06	9.66	9.860	満足	0.40	満足	0.381	満足
2	9.86	9.89	9.875	満足	0.03	満足	0.405	満足
8	9.69	10.10	9.895	満足	0.41	満足	0.437	満足
17	9.99	9.94	9.965	満足	0.05	満足	0.548	満足
1	10.15	9.87	10.010	満足	0.28	満足	0.619	満足
16	9.66	10.36	10.010	満足	0.70	満足	0.619	満足
7	10.88	9.18	10.030	満足	1.70	不満足	0.651	満足
24	10.45	10.25	10.350	満足	0.20	満足	1.159	満足
6	10.44	10.43	10.435	満足	0.01	満足	1.294	満足
13	12.72	12.04	12.380	満足	0.68	満足	4.381	不満足

*:単位 $\mu\text{g/g}$

評価基準

Xbar管理図 満足: $LCL(6.734) \leq Xbar \leq UCL(12.506)$

R管理図 満足: $0 \leq R \leq UCL(1.27)$

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: $3 \leq |z\text{-スコア}|$

表7 日本ハムキットによる卵検出の結果および評価一覧

機関 番号	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
18	7.42	7.30	7.360	不満足	0.12	満足	-2.430	満足
14	8.54	8.76	8.650	満足	0.22	満足	-1.474	満足
11	9.05	9.02	9.035	満足	0.03	満足	-1.189	満足
5	9.76	8.87	9.315	満足	0.89	満足	-0.981	満足
12	9.52	9.46	9.490	満足	0.06	満足	-0.852	満足
19	10.34	9.81	10.075	満足	0.53	満足	-0.419	満足
22	9.83	10.35	10.090	満足	0.52	満足	-0.407	満足
6	10.24	10.27	10.255	満足	0.03	満足	-0.285	満足
24	9.81	10.71	10.260	満足	0.90	満足	-0.281	満足
8	10.44	10.24	10.340	満足	0.20	満足	-0.222	満足
21	10.37	10.45	10.410	満足	0.08	満足	-0.170	満足
17	10.46	10.50	10.480	満足	0.04	満足	-0.119	満足
20	11.01	9.98	10.495	満足	1.03	満足	-0.107	満足
3	10.33	10.89	10.610	満足	0.56	満足	-0.022	満足
15	10.75	11.00	10.875	満足	0.25	満足	0.174	満足
10	10.74	11.27	11.005	満足	0.53	満足	0.270	満足
7	11.79	11.12	11.455	満足	0.67	満足	0.604	満足
13	11.99	11.44	11.715	満足	0.55	満足	0.796	満足
1	11.73	12.13	11.930	満足	0.40	満足	0.956	満足
9	11.71	12.32	12.015	満足	0.61	満足	1.019	満足
2	12.50	12.30	12.400	満足	0.20	満足	1.304	満足
4	10.24	15.00	12.620	満足	4.76	不満足	1.467	満足
16	14.30	14.98	14.640	不満足	0.68	満足	2.963	満足

*:単位 $\mu\text{g/g}$

評価基準

Xbar管理図 満足: $LCL (7.448) \leq Xbar \leq UCL (13.832)$

R管理図 満足: $0 \leq R \leq UCL (1.96)$

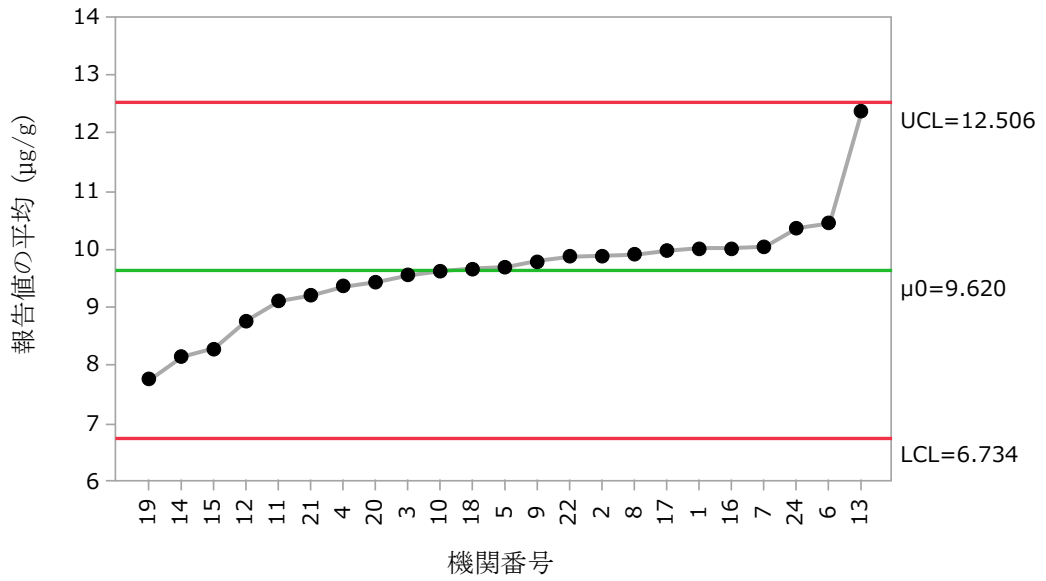
zスコア 満足: $|z\text{スコア}| < 3$

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

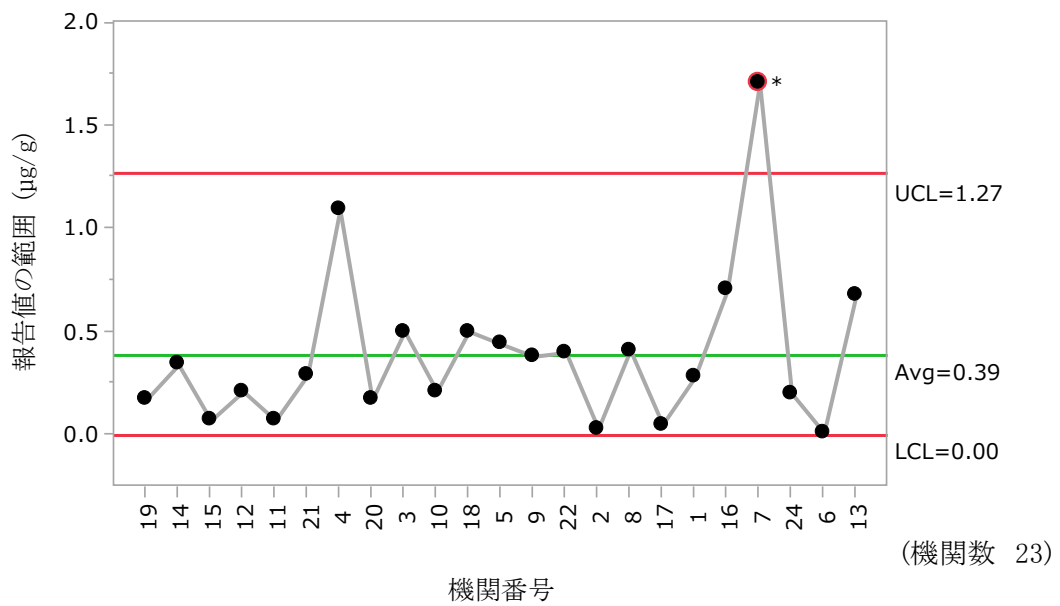
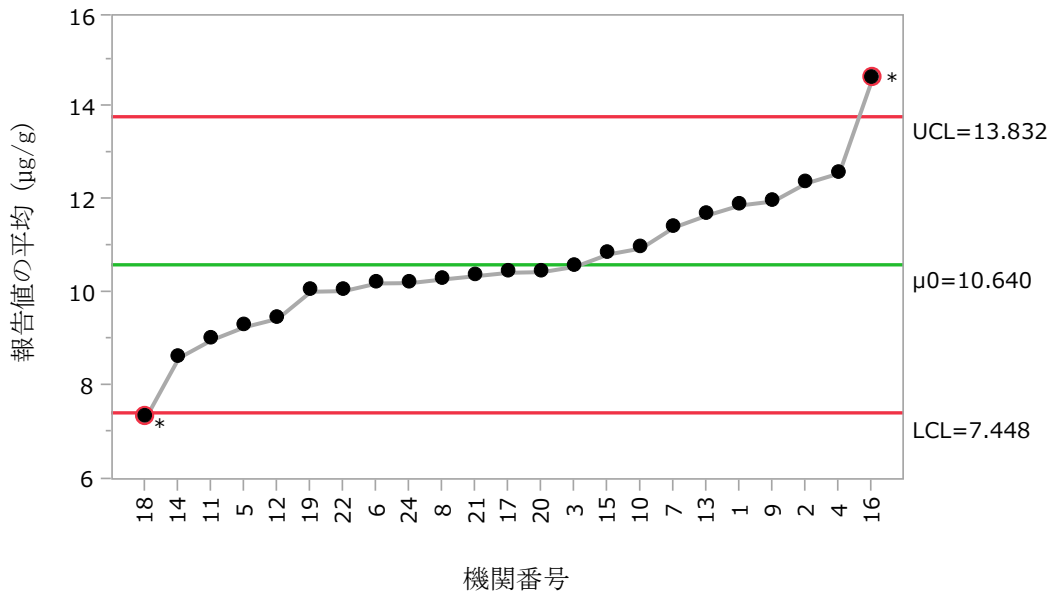


図3 モリナガキットを用いた卵たんぱく質量測定結果 (\bar{X} - R 管理図)

\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 D_4 (=3.267) から算出

a) \bar{X} 管理図



b) R 管理図

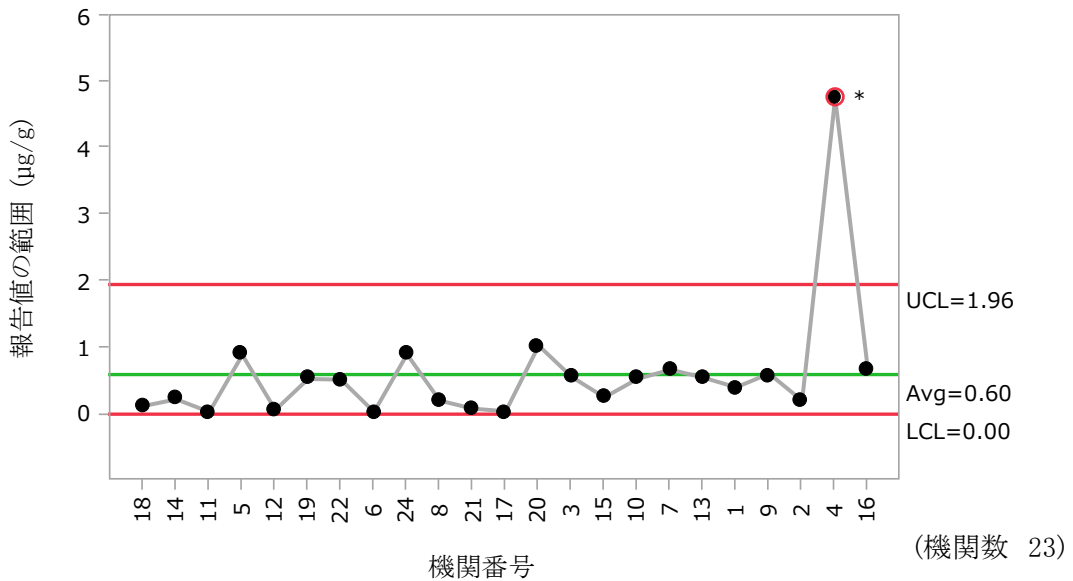
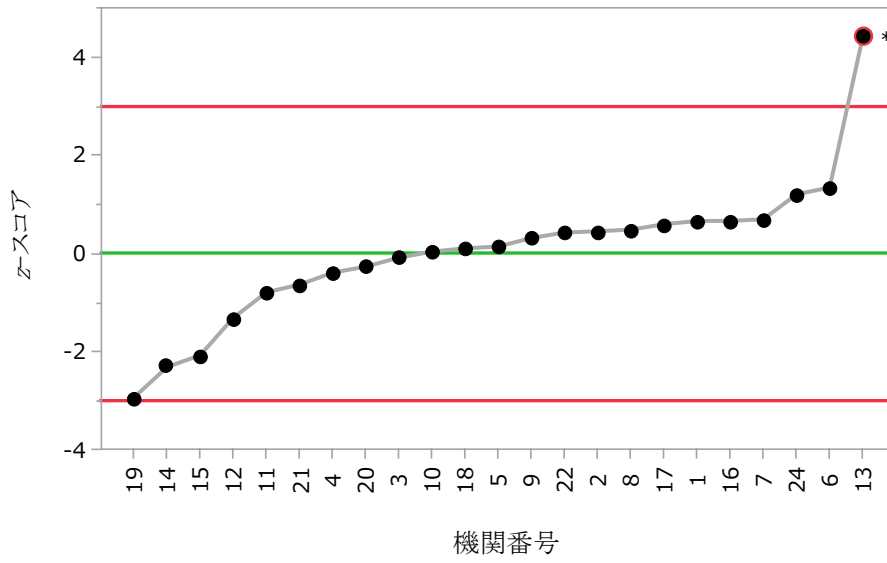


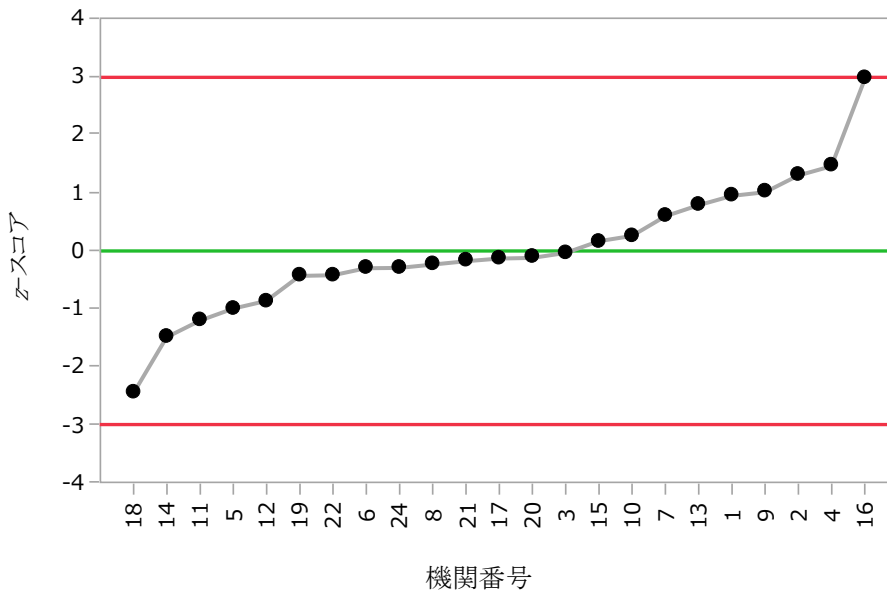
図4 日本ハムキットを用いた卵たんぱく質量測定結果 (\bar{X} - R 管理図)

\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 D_4 (=3.267) から算出

a) モリナガキット



b) 日本ハムキット



(機関数 23)

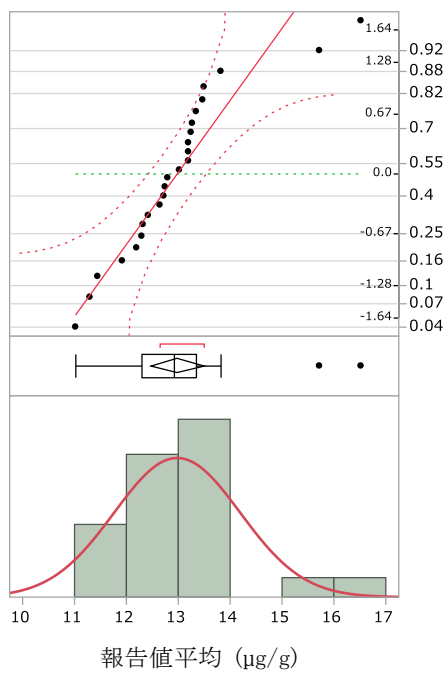
図5 ELISA法による卵たんぱく質量測定結果 (Zスコア)

表8 ELISA法による乳たんぱく質量測定結果の統計量一覧

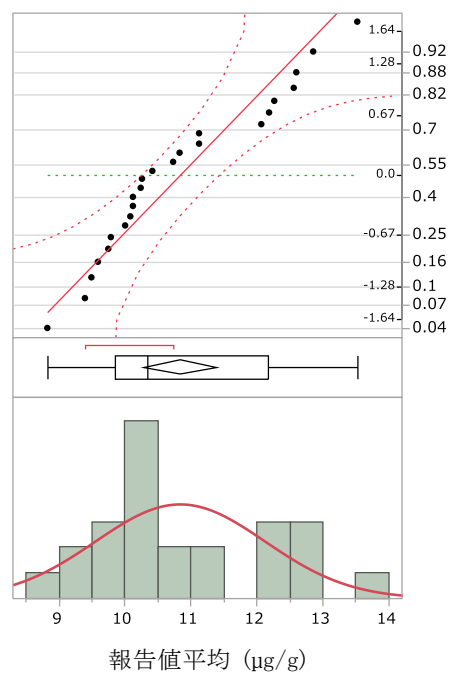
キットのメーカー名		モリナガ	日本ハム
統計量の種類		ロバスト方式	ロバスト方式
MCによる除外機関		0	0
データ（有効機関）数		24	24
測定 の 統計量*	平均値	12.85	10.81
	標準偏差	0.83	1.39
	相対標準偏差	6.46	12.86
	第1四分位数 (Q1)	12.30875	9.85125
	中央値 (メジアン)	12.9225	10.35
	第3四分位数 (Q3)	13.34125	12.1675
	最大値	16.535	13.53
	最小値	11.015	8.825
	範囲	5.52	4.705
	四分位範囲	1.0325	2.31625
測定 の 差*	Rの平均	0.39	0.42
	上部管理限界	1.27	1.37

*：単位は相対標準偏差では%、それ以外では $\mu\text{g/g}$

a) モリナガキット



b) 日本ハムキット



(機関数 24)

図6 乳検出用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9 モリナガキットによる乳検出の結果および評価一覧

機関 番号	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
12	10.94	11.09	11.015	満足	0.15	満足	-2.211	満足
19	11.35	11.26	11.305	満足	0.09	満足	-1.861	満足
14	11.41	11.46	11.435	満足	0.05	満足	-1.705	満足
23	11.80	12.05	11.925	満足	0.25	満足	-1.114	満足
21	12.59	11.79	12.190	満足	0.80	満足	-0.795	満足
18	12.57	12.03	12.300	満足	0.54	満足	-0.663	満足
11	12.52	12.15	12.335	満足	0.37	満足	-0.620	満足
4	12.57	12.28	12.425	満足	0.29	満足	-0.512	満足
24	13.06	12.25	12.655	満足	0.81	満足	-0.235	満足
2	12.39	13.06	12.725	満足	0.67	満足	-0.151	満足
5	13.16	12.32	12.740	満足	0.84	満足	-0.133	満足
6	12.98	12.64	12.810	満足	0.34	満足	-0.048	満足
10	13.14	12.93	13.035	満足	0.21	満足	0.223	満足
20	13.03	13.37	13.200	満足	0.34	満足	0.422	満足
22	13.33	13.07	13.200	満足	0.26	満足	0.422	満足
7	13.01	13.40	13.205	満足	0.39	満足	0.428	満足
16	13.30	13.20	13.250	満足	0.10	満足	0.482	満足
3	13.16	13.41	13.285	満足	0.25	満足	0.524	満足
8	13.64	13.08	13.360	満足	0.56	満足	0.614	満足
17	13.31	13.65	13.480	満足	0.34	満足	0.759	満足
9	13.28	13.70	13.490	満足	0.42	満足	0.771	満足
15	13.51	14.14	13.825	満足	0.63	満足	1.175	満足
1	15.94	15.52	15.730	満足	0.42	満足	3.470	不満足
13	16.41	16.66	16.535	満足	0.25	満足	4.440	不満足

*:単位 $\mu\text{g/g}$

評価基準

Xbar管理図 満足: $LCL(8.995) \leq Xbar \leq UCL(16.705)$

R管理図 満足: $0 \leq R \leq UCL(1.27)$

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: $3 \leq |z\text{スコア}|$

表10 日本ハムキットによる乳検出の結果および評価一覧

機関 番号	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
19	8.52	9.13	8.825	満足	0.61	満足	-1.428	満足
12	9.44	9.37	9.405	満足	0.07	満足	-1.011	満足
18	9.48	9.51	9.495	満足	0.03	満足	-0.946	満足
3	9.37	9.81	9.590	満足	0.44	満足	-0.878	満足
11	9.70	9.79	9.745	満足	0.09	満足	-0.766	満足
21	9.71	9.89	9.800	満足	0.18	満足	-0.727	満足
24	10.47	9.54	10.005	満足	0.93	満足	-0.579	満足
23	10.45	9.71	10.080	満足	0.74	満足	-0.525	満足
6	10.05	10.19	10.120	満足	0.14	満足	-0.496	満足
14	10.09	10.17	10.130	満足	0.08	満足	-0.489	満足
5	10.56	9.92	10.240	満足	0.64	満足	-0.410	満足
20	9.92	10.62	10.270	満足	0.70	満足	-0.388	満足
13	10.62	10.24	10.430	満足	0.38	満足	-0.273	満足
8	10.86	10.61	10.735	満足	0.25	満足	-0.054	満足
2	11.34	10.35	10.845	満足	0.99	満足	0.025	満足
10	11.27	11.00	11.135	満足	0.27	満足	0.234	満足
22	10.95	11.32	11.135	満足	0.37	満足	0.234	満足
9	12.26	11.91	12.085	満足	0.35	満足	0.917	満足
7	12.19	12.20	12.195	満足	0.01	満足	0.996	満足
15	12.32	12.21	12.265	満足	0.11	満足	1.047	満足
1	13.05	12.09	12.570	満足	0.96	満足	1.266	満足
17	12.78	12.44	12.610	満足	0.34	満足	1.295	満足
16	12.64	13.10	12.870	満足	0.46	満足	1.482	満足
4	13.97	13.09	13.530	満足	0.88	満足	1.957	満足

*:単位 $\mu\text{g/g}$

評価基準

\bar{X} 管理図 満足: $LCL(7.567) \leq \bar{X} \leq UCL(14.053)$

R 管理図 満足: $0 \leq R \leq UCL(1.37)$

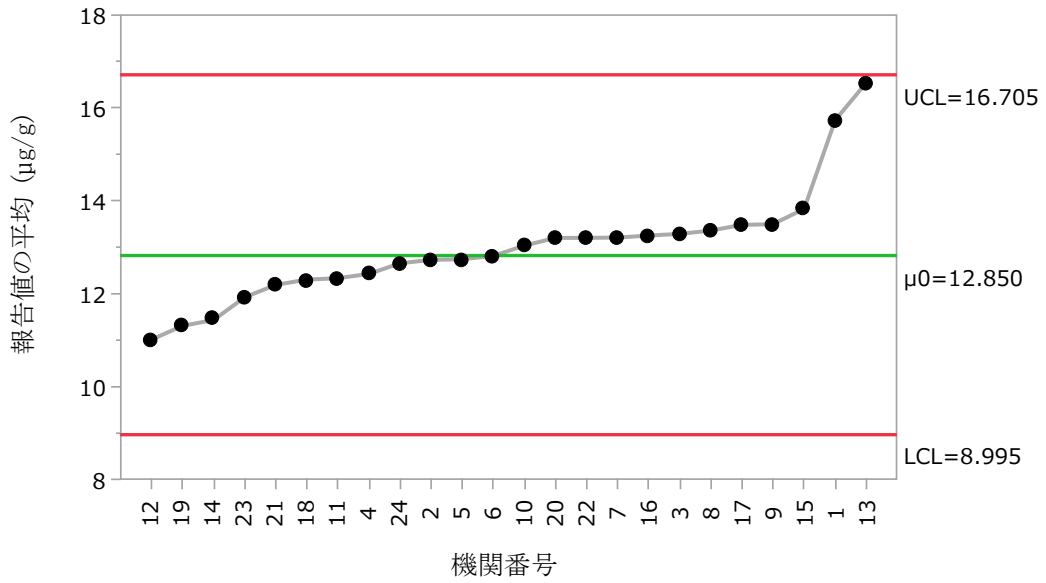
z -スコア 満足: $|z\text{-スコア}| < 3$

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

不満足: $UCL < R$

不満足: $3 \leq |z\text{-スコア}|$

a) \bar{X} 管理図



b) R 管理図

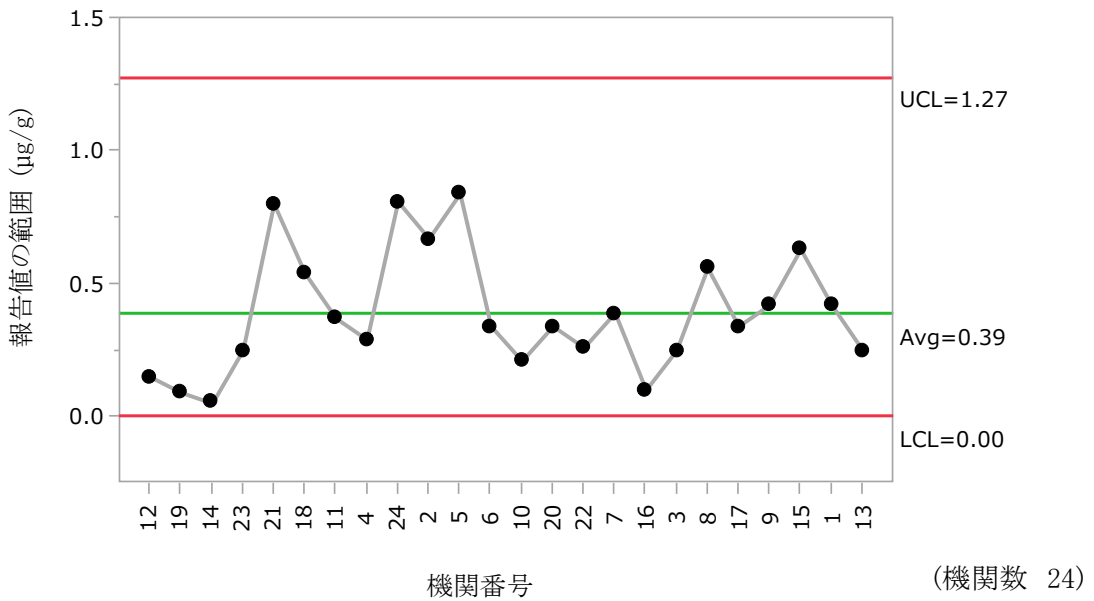
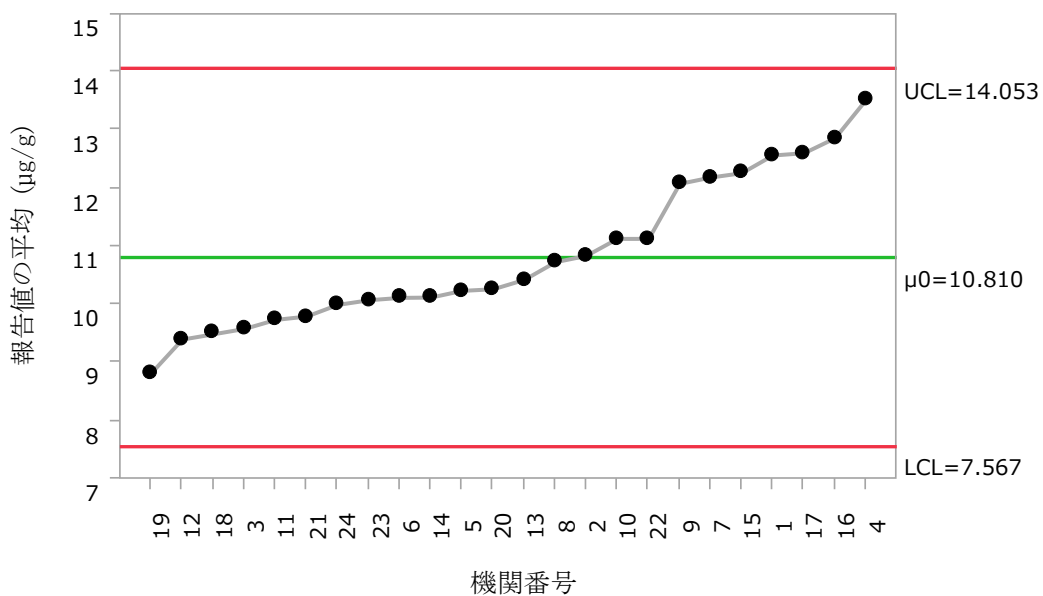


図7 モリナガキットを用いた乳たんぱく質量測定結果 (\bar{X} - R 管理図)

\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 D_4 (=3.267) から算出

a) \bar{X} 管理図



b) R 管理図

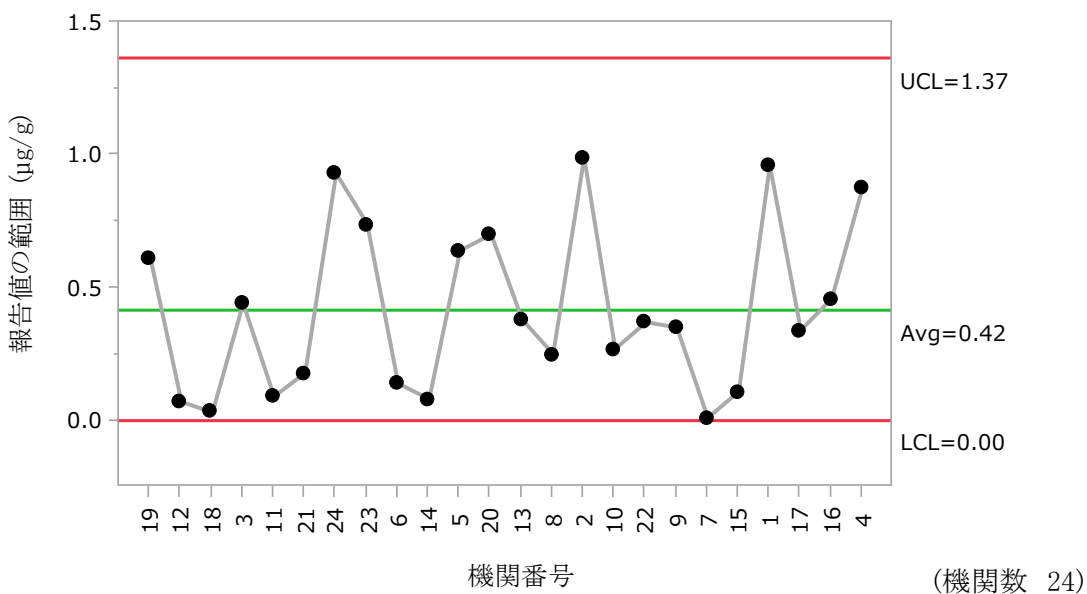
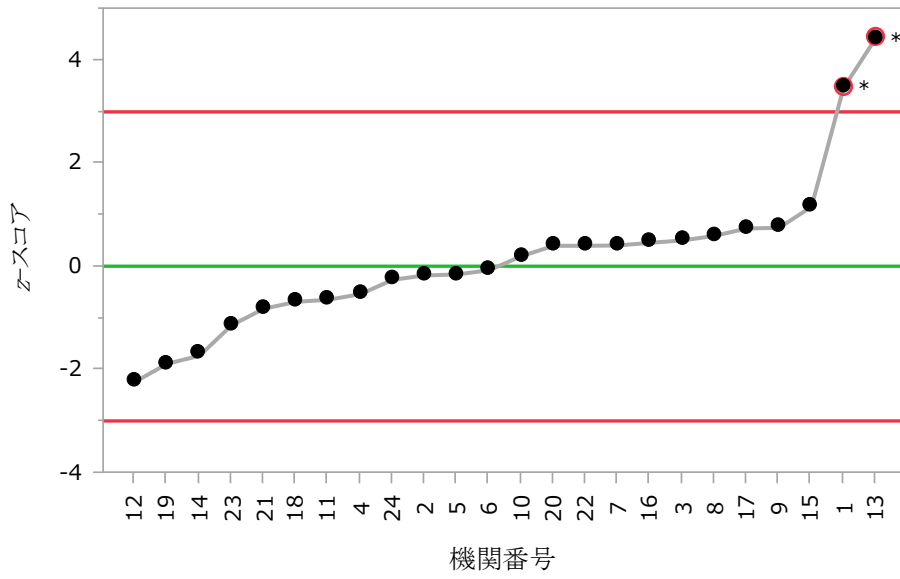


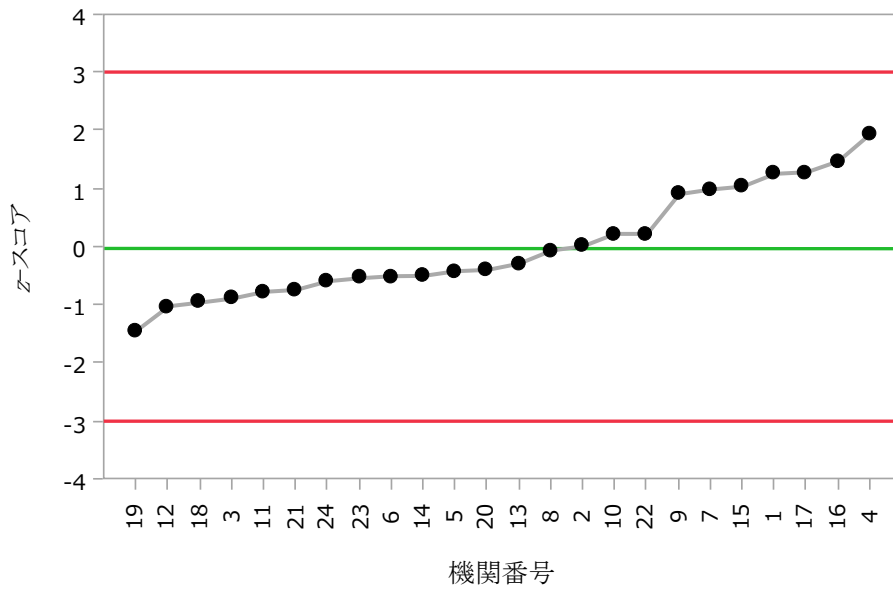
図8 日本ハムキットを用いた乳たんぱく質量測定結果 (\bar{X} - R 管理図)

\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 D_4 (=3.267) から算出

a) モリナガキット



b) 日本ハムキット



(機関数 24)

図9 ELISA法による乳たんぱく質量測定結果 (Zスコア)

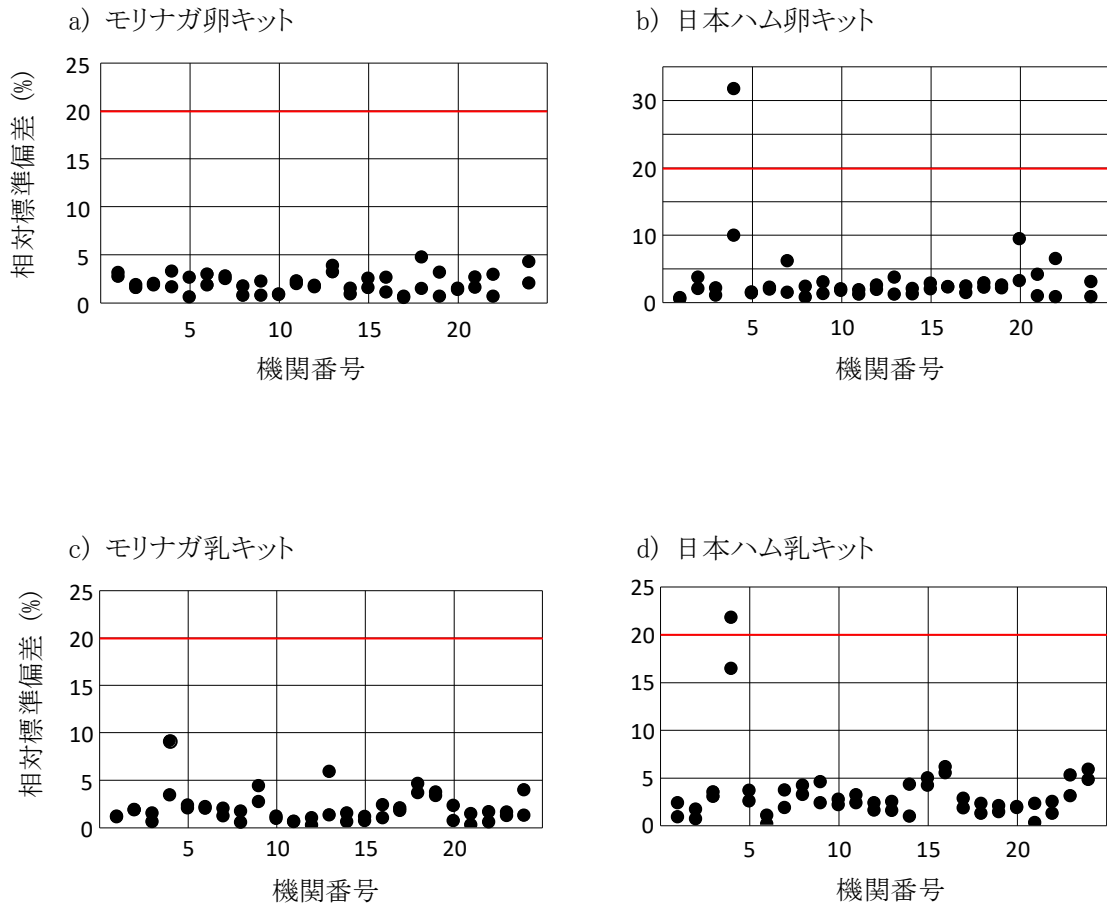
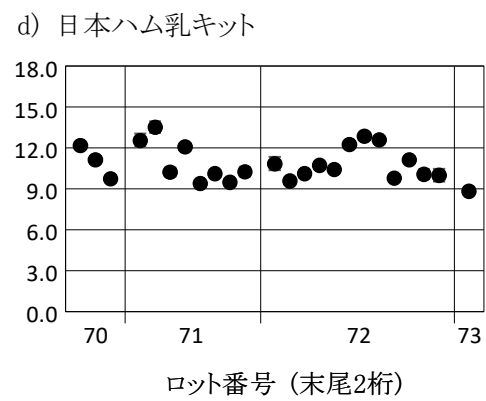
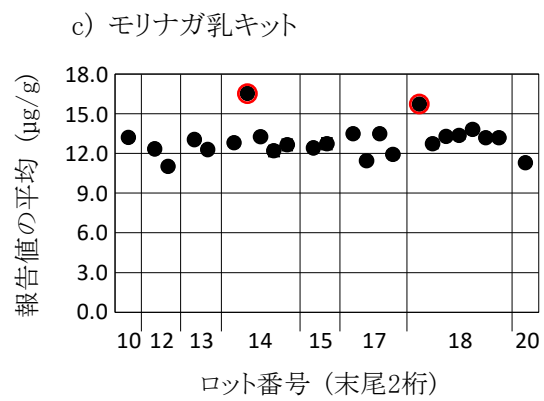
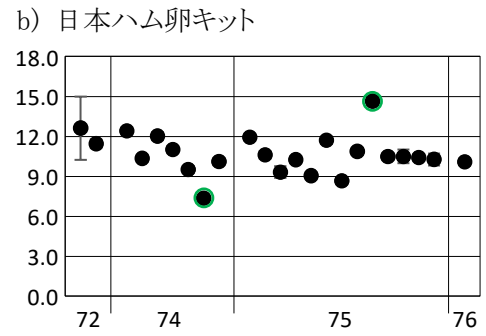
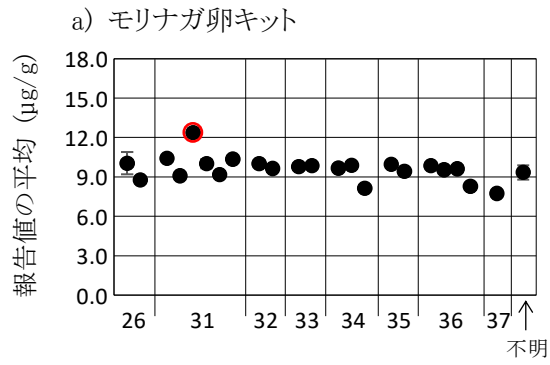


図10 各測定値における3ウェル間の相対標準偏差



○ $|z\text{-スコア}| \geq 3$ ○ \bar{X} 管理図で管理限界線外

図11 各キットで得られた報告値のロット間比較

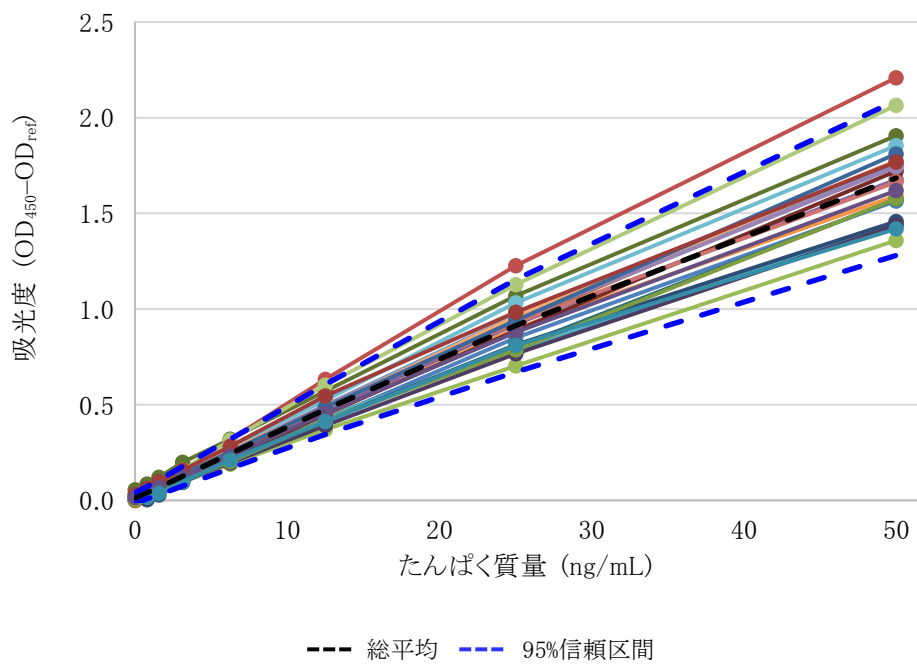


図12 モリナガ卵キット を用いた測定における検量線 (23機関)
 ロット別検量線は図14を参照

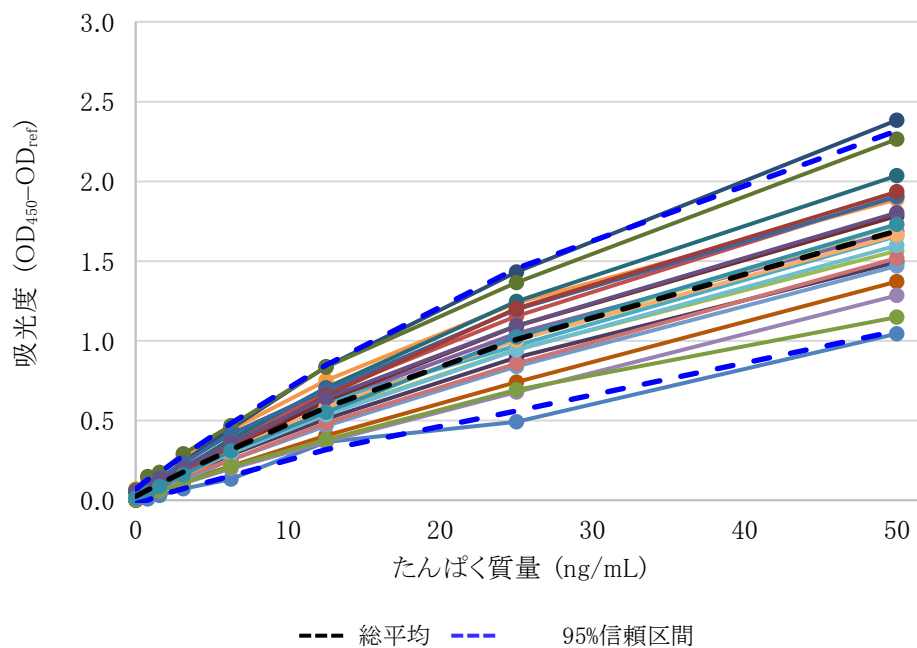


図13 日本ハム卵キットを用いた測定における検量線 (23機関)
 ロット別検量線は図15を参照

表11 外部精度管理調査研究で使用されたモリナガ卵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
22JASFOA126	2023.1.5	2
22MASFOA131	2023.3.10	6
22APSFOA132	2023.4.4	2
22APSFOA133	2023.4.20	2
22MYSFOA134	2023.5.9	3
22MYSFOA135	2023.5.20	2
22JUSFOA136	2023.6.7	4
22JLSFOA137	2023.7.22	1
不明	—	1

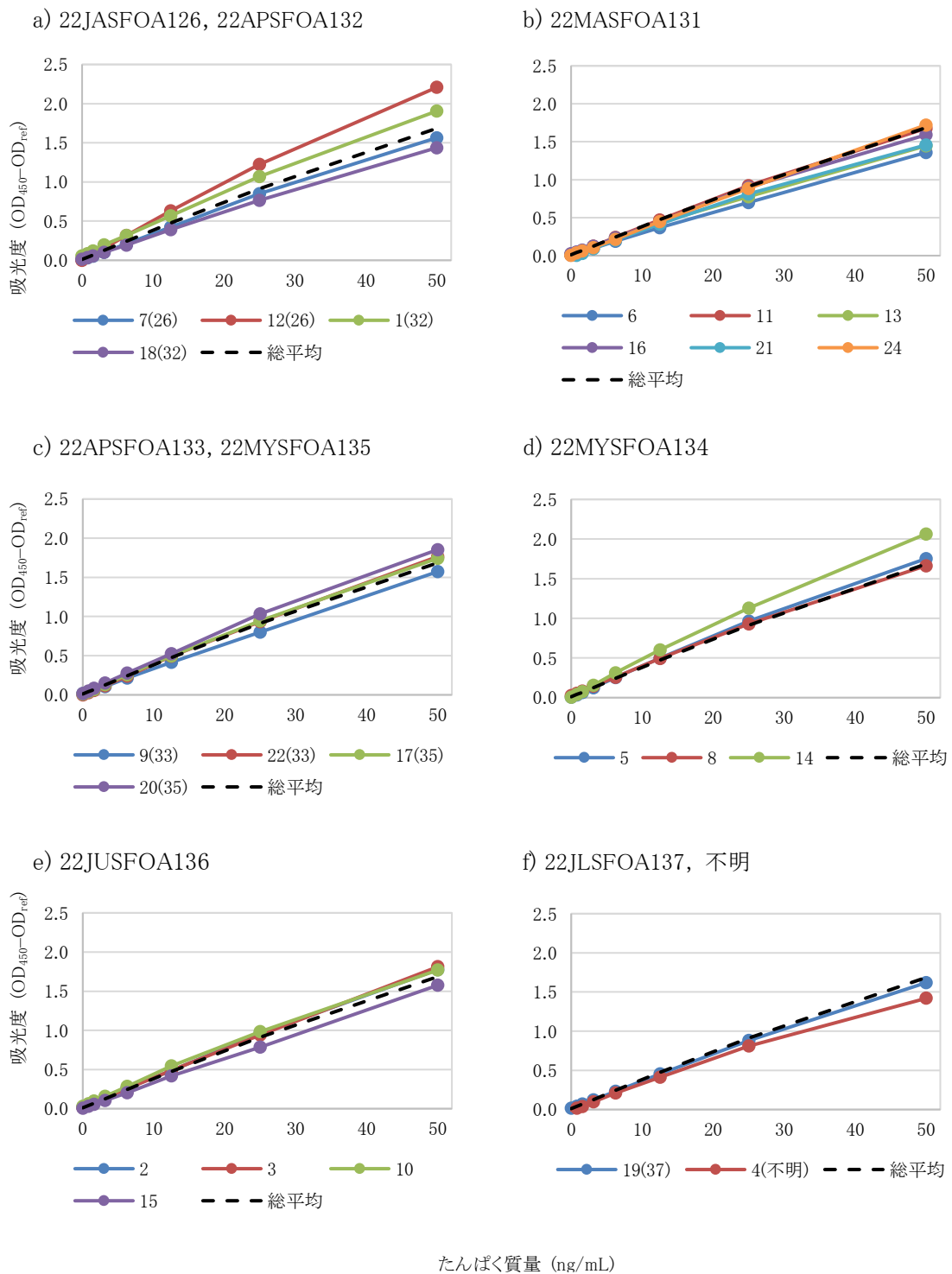


図14 モリナガ卵キットを用いた測定におけるロット別検量線

表12 外部精度管理調査研究で使用された日本ハム卵キットの
ロットおよび使用機関数

ロット	使用期限	使用機関数
FKEE2272	2022.11	2
FKEE2274	2023.1	7
FKEE2275	2023.3	13
FKEE2276	2023.5	1

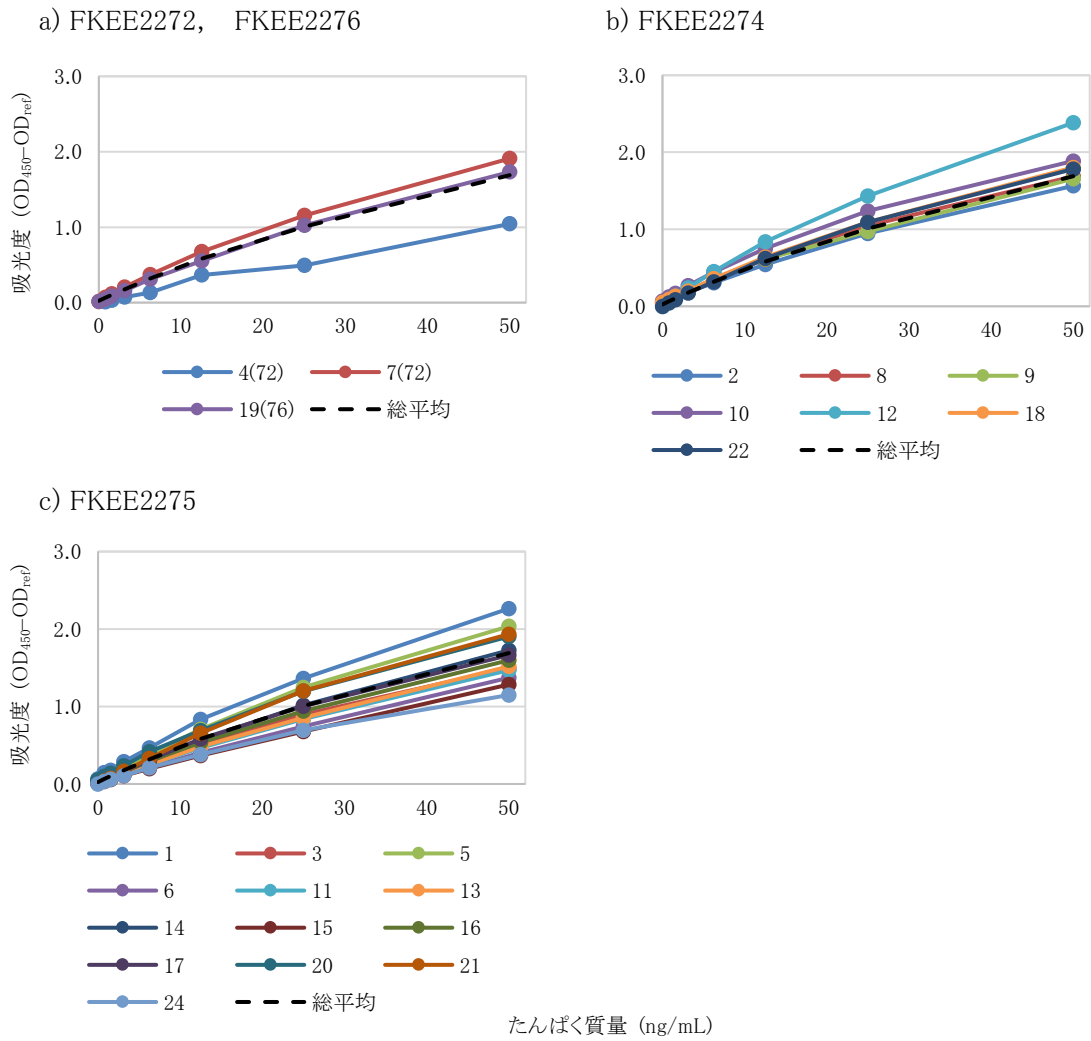


図15 日本ハム卵キットを用いた測定におけるロット別検量線

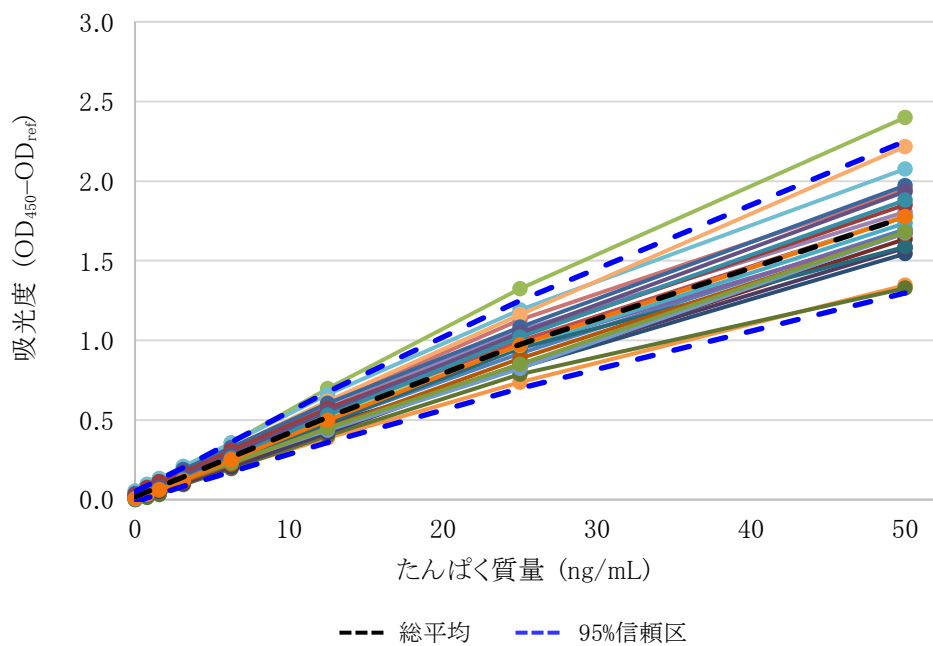


図16 モリナガ乳キットを用いた測定における検量線 (24機関)
ロット別検量線は図18を参照

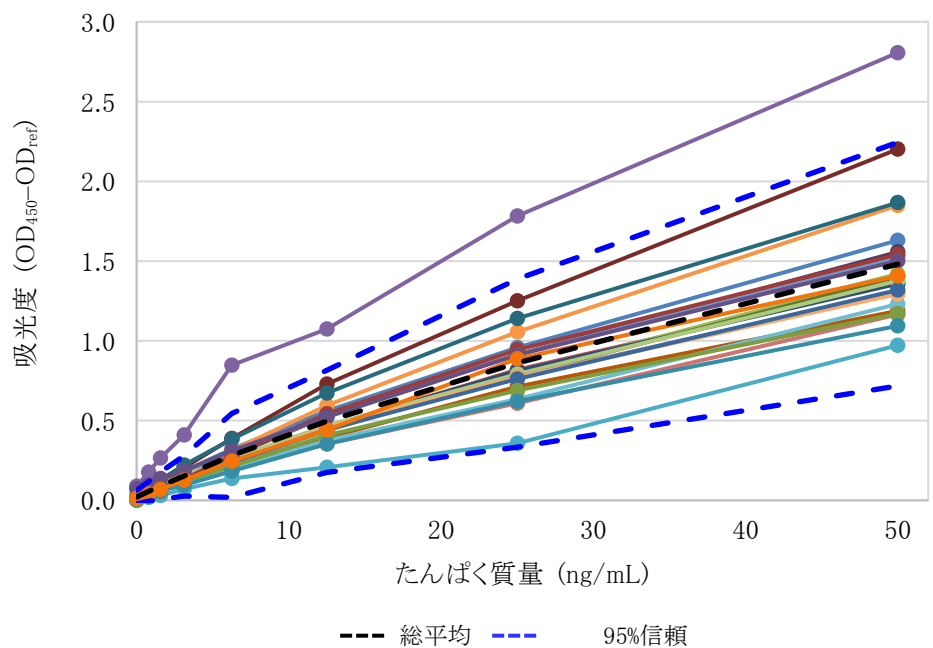


図17 日本ハム乳キットを用いた測定における検量線 (24機関)
ロット別検量線は図19を参照

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

ロット	使用期限	使用機関数
22JASFCS110	2023/1/11	1
22FESFCS112	2023/2/4	2
22MASFCS113	2023/3/1	2
22MASFCS114	2023/3/7	5
22MASFCS115	2023/3/23	2
22MYSFCS117	2023/5/12	4
22JUSFCS118	2023/6/6	7
22AUSFCS120	2023/8/4	1

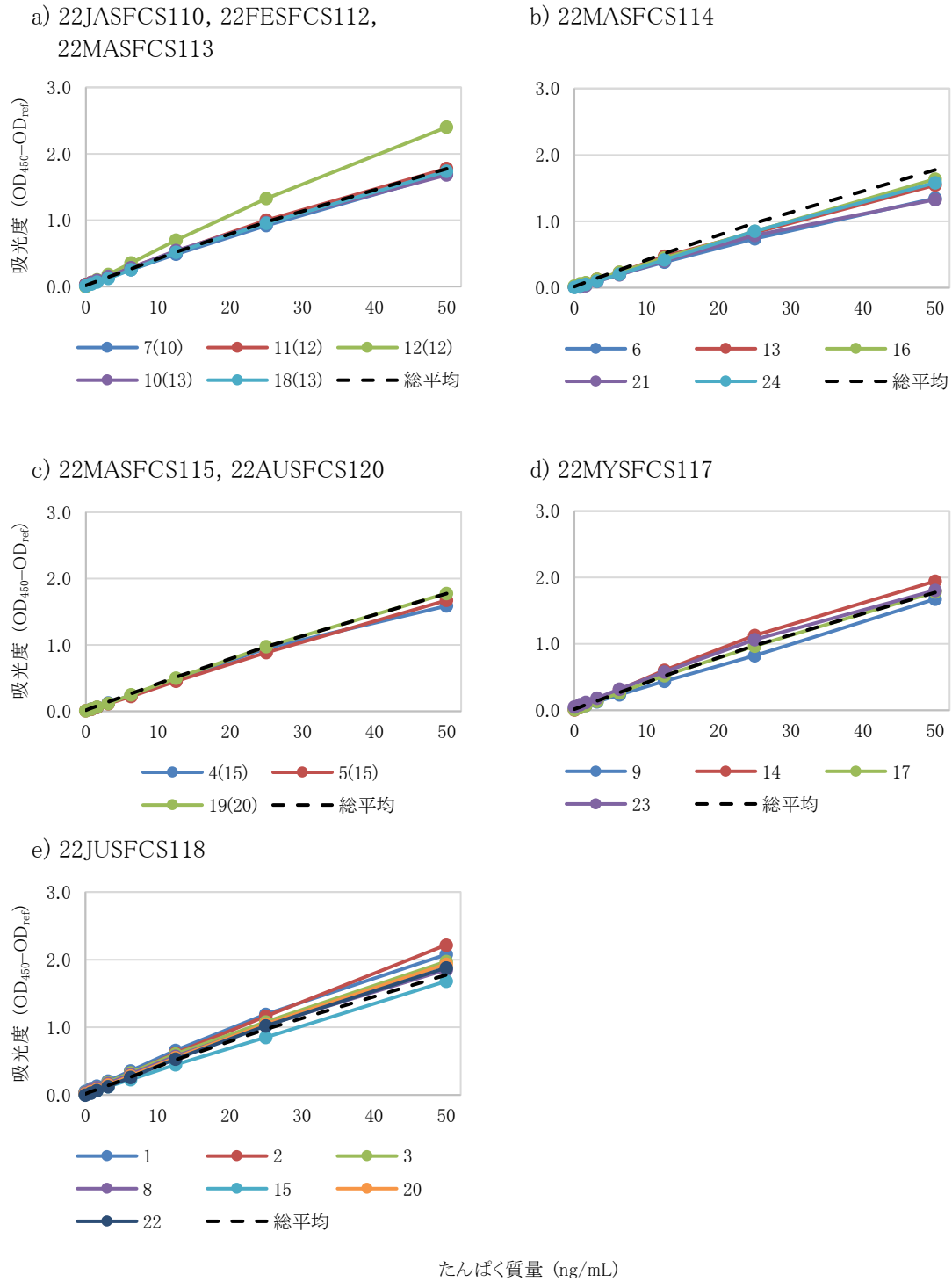


図18 モリナガ乳キットを用いた測定におけるロット別検量線

表14 外部精度管理調査研究で使用された日本ハム乳キットの
ロットおよび使用機関数

ロット	使用期限	使用機関数
FKEM2270	2022.11	3
FKEM2271	2023.1	8
FKEM2272	2023.3	12
FKEM2273	2023.4	1

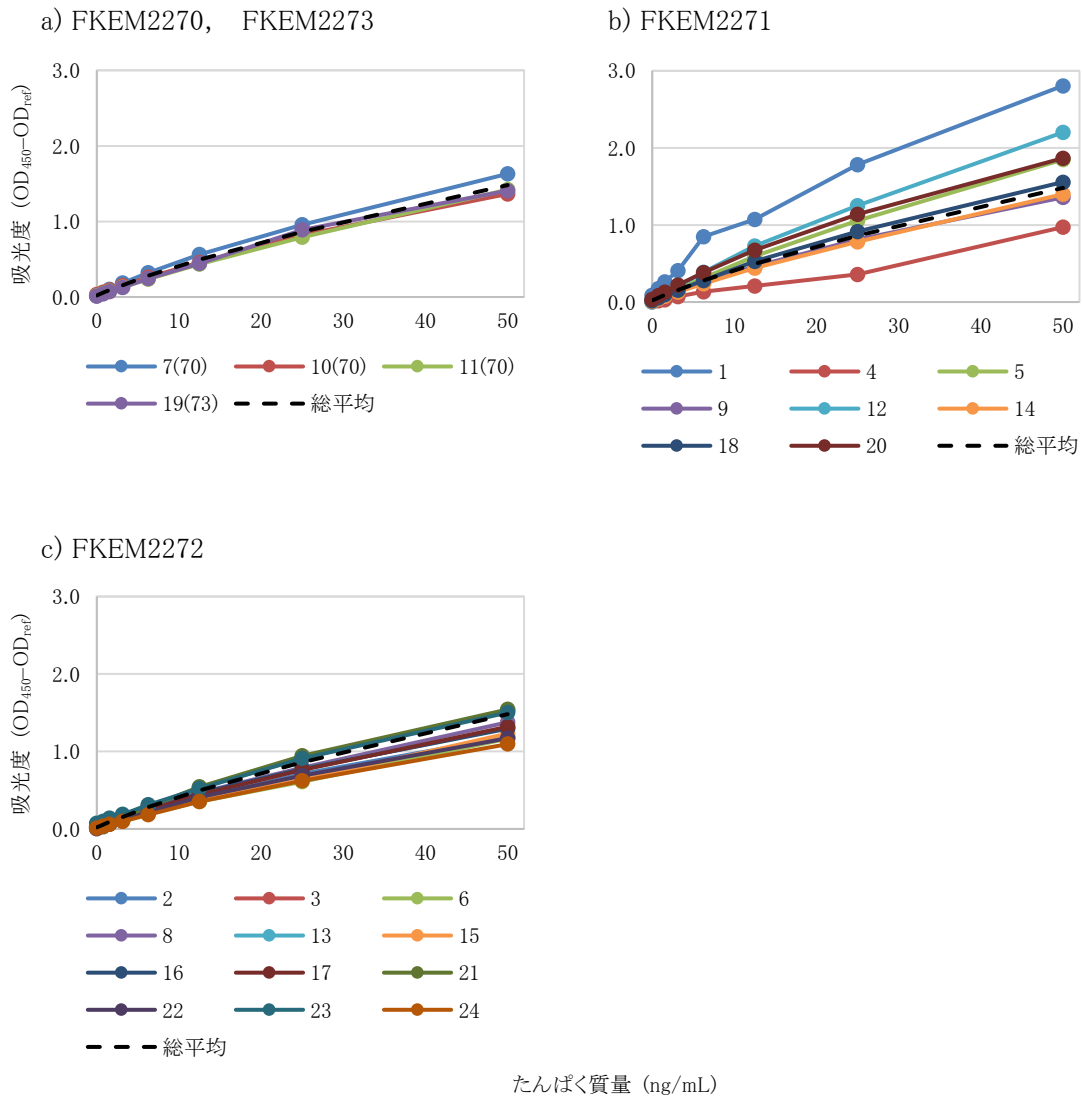
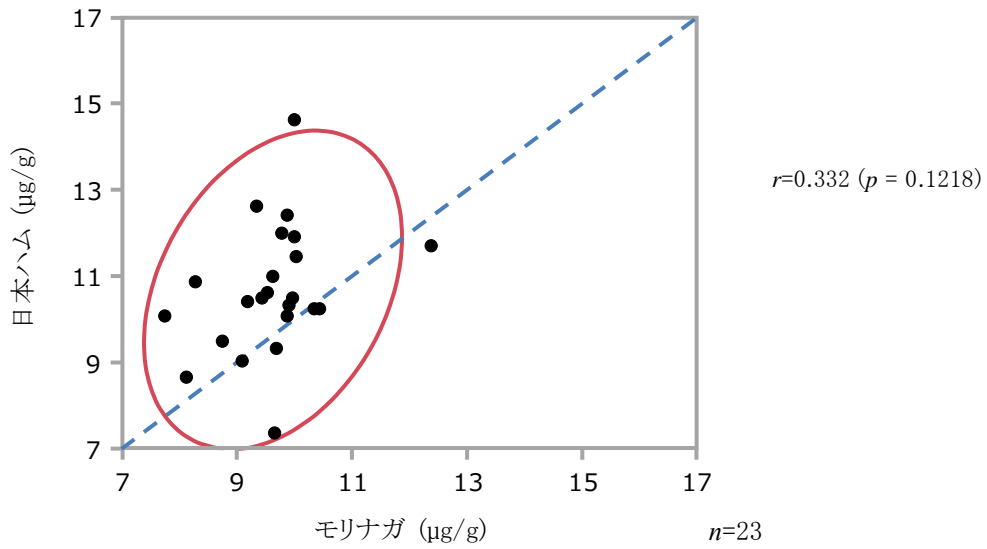


図19 日本ハム乳キットを用いた測定におけるロット別検量線

a) 卵検出系



b) 乳検出系

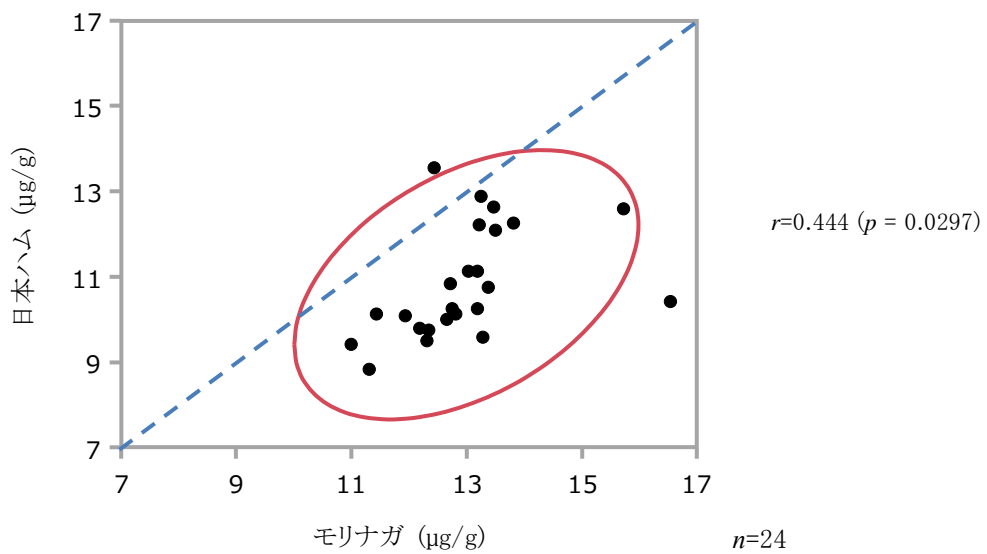


図20 同一特定原材料におけるキット間の報告値の相関性

図中の楕円は95%確率楕円を示す。点線は $y = x$

表15 2022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 ^a	0	1	2	3 - 5	6 - 10	10超
	5	5	3	8	2	3
抽出方法	振とう	その他				
	24	0				
振とう時間 (h)	12未満	12 - 16未満	16 - 20未満	20以上		
	0	6	18	0		
振とう速度 (rpm)	90未満	90 - 110	110超	不明		
	0	22	1	1		
ろ過	実施	実施せず				
	16	8				
遠心分離	実施	実施せず				
	23	1				
抽出液等の希釈操作	手動	自動				
	23	1				
試薬のプレート への添加 ^a	手動				電動	
	連続分注		マルチch	シングルch	連続分注 シングルch	自動
	マルチch	シングルch				
	0	0	20	3	0	2
13	11					
洗浄方法	手動	自動				
	13	11				
マイクロプレート リーダーのメーカー	TECAN	ThermoFisher	Corona	Bio-Rad	Bio Tek	その他
	1	5	8	6	2	2
検量線の 回帰法	4PL ^b	その他				
	24	0				
ピペット校正	年1回以上	2-3年に1回程度	不定期	行わない		
	14	1	6	3		
天びん校正	年1回以上	2-3年に1回程度	不定期	行わない		
	21	1	2	0		

a 複数回答有

b 4PL: 4パラメーターロジスティック

(24機関)

表16 2022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) モリナガ卵キット (23機関)、使用ロット数 8ロット+不明1

項目	回答区分				
	1	2	3	4	5
抽出液の 保存期間 (日)	0	1	2	3-7	> 7
	15	6	0	1	1
抽出液の 保存条件	室温	冷蔵	冷凍(-50℃以上)	冷凍(-50℃未満)	
	0	6	1	1	
試料添加時間 (分)	10以内	10-20以内	20-30以内	30超	不明
	18	4	0	0	1
操作中の室温 (範囲)	20℃未満	20-30℃	30℃超		
	0	23	0		

b) 日本ハム卵キット (23機関)、使用ロット数 4ロット

項目	回答区分				
	1	2	3	4	5
抽出液の 保存期間 (日)	0	1	2	3-7	> 7
	15	6	0	1	1
抽出液の 保存条件	室温	冷蔵	冷凍(-50℃以上)	冷凍(-50℃未満)	
	1	6	1	0	
試料添加時間 (分)	10以内	10-20以内	20-30以内	30超	不明
	18	4	0	0	1
操作中の室温 (範囲)	20℃未満	20-25℃	25℃をはさむ上下	25-30℃	30℃超
	0	18	3	2	0

c) モリナガ乳キット (24機関)、使用ロット数 8ロット

項目	回答区分				
	1	2	3	4	5
抽出液の 保存期間 (日)	0	1	2	3-7	> 7
	17	6	1	0	0
抽出液の 保存条件	室温	冷蔵	冷凍(-50℃以上)	冷凍(-50℃未満)	
	0	7	0	0	
試料添加時間 (分)	10以内	10-20以内	20-30以内	30超	不明
	18	5	0	0	1
操作中の室温 (範囲)	20℃未満	20-30℃	30℃超		
	0	24	0		

d) 日本ハム乳キット (24機関)、使用ロット数 4ロット

項目	回答区分				
	1	2	3	4	5
抽出液の 保存期間 (日)	0	1	2	3-7	> 7
	14	7	1	1	1
抽出液の 保存条件	室温	冷蔵	冷凍(-50℃以上)	冷凍(-50℃未満)	
	1	8	1	0	
試料添加時間 (分)	10以内	10-20以内	20-30以内	30超	不明
	18	4	1	0	1
操作中の室温 (範囲)	20℃未満	20-25℃	25℃をはさむ上下	25-30℃	30℃超
	0	19	4	1	0

表17 2021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	2	3	3	1	1	5

(回答19機関)

表18 2021年度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法 実施機関 (18機関)	10	8	10	7	6	9
総試験数	3630 (19.9%)	3150 (17.3%)	3087 (16.9%)	3267 (17.9%)	3264 (17.9%)	1822 (10.0%)
陽性検出機関 (18機関)	2	3	3	2	2	4
検出試験数	456	449	896	74	107	110
陽性率 (%)	12.6	14.3	29.0	2.3	3.3	6.0
使用キット [複数回答] (22機関)						
日本ハム	15	14	14	11	9	—
モリナガ	14	13	14	10	9	—
プリマハム	1	0	1	0	0	—
ニッスイ	—	—	—	—	—	11
マルハ	—	—	—	—	—	12
確認試験 実施機関 (18機関)	2	1	3	1	1	4
総試験数	7	5	23	9	14	19
陽性検出機関 (18機関)	1	1	2	0	1	3
検出試験数	5	1	5	0	1	10

表19 Incurred samples作製のためのスクリーニング結果

a) 卵検出用

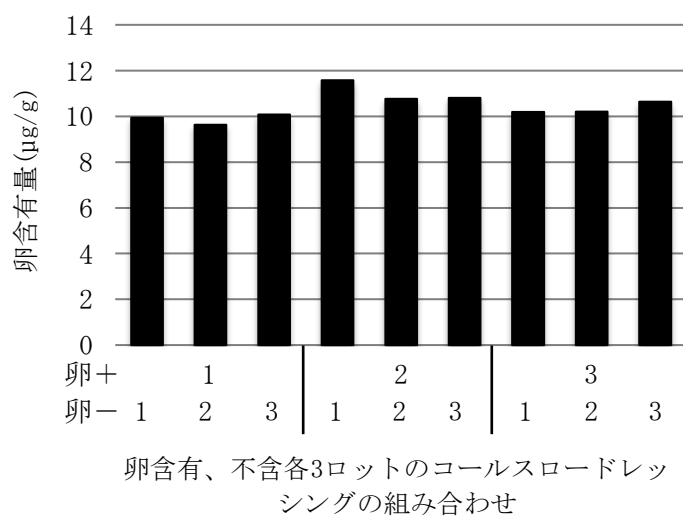
試料	卵含量(μg/g)
焼菓子1	33.67
焼菓子2	3.01
油菓子	3.96
パスタソース	48.92
ピザソース	0.27
コールスロードレッシング	33.05
11試料	≥ 50
7試料	検出限界以下

b) 乳検出用

試料	乳含量(μg/g)
スナック菓子1	0.04
スナック菓子2	0.20
スナック菓子3	> 50
チョコレート	> 50
乾燥スープ	0.19
プレッツェル	45.1
クッキー	19.0
ビスケット	> 50

図21 Incurred samples用試料のロット間差

a) 卵検出用



b) 乳検出

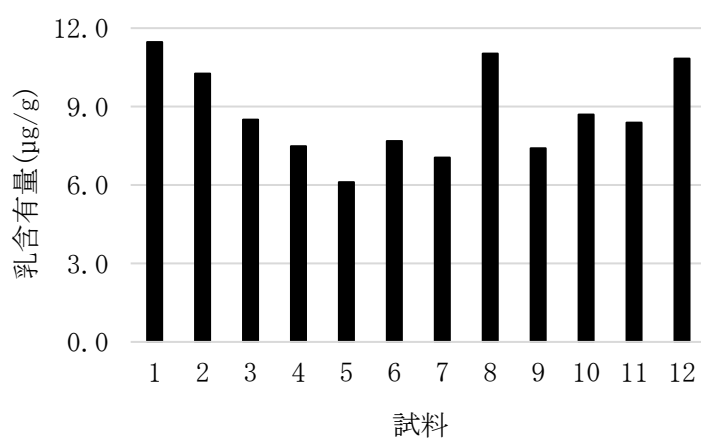


表20 Incurred samplesのモリナガキットを用いた2施設間での測定含量の比較および均質性

特定原材料	食品名	施設1	施設2	
		含量 (µg/g)	含量 (µg/g)	均質性
卵	コールスロドレッシング	9.8±0.60	10.79±0.26	均質
乳	クッキー	8.3±0.21	7.00±0.36	均質

令和4年度 特定原材料検査外部精度管理調査研究参加機関

千葉県衛生研究所

杉並保健所 生活衛生課 衛生検査係

川崎市健康安全研究所

長野県環境保全研究所

岐阜県保健環境研究所

愛知県衛生研究所

豊田市保健所 保健衛生課 衛生試験所

滋賀県衛生科学センター

地方独立行政法人大阪健康安全基盤研究所天王寺センター

香川県環境保健研究センター

山口県環境保健センター

福岡市保健医療局保健環境研究所

佐賀県衛生薬業センター

公益社団法人日本食品衛生協会 食品衛生研究所

一般社団法人 新潟県環境衛生中央研究所

一般財団法人 食品環境検査協会

日本生活協同組合連合会

株式会社エムビックらいふ 環境分析センター

オリエンタル酵母工業株式会社 長浜工場 長浜ライフサイエンスラボラトリー

ユーロフィンQKEN株式会社

名古屋製酪株式会社

日東富士製粉株式会社

株式会社ハウス食品分析テクノサービス

星薬科大学薬学部