

令和 5 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  
ー特定原材料検査(卵)技能試験プログラムのパイロットスタディ(3)ー

|       |       |                     |     |
|-------|-------|---------------------|-----|
| 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

食の多様化に伴い、国民の罹患する食物アレルギーのアレルゲンは変化しており、食品表示における特定原材料の規定も現状にあったものへと変更されている。

食品衛生検査施設等においては食品中の特定原材料を検出するために ELISA 法によるスクリーニング試験を行っている。ELISA 用キットは通知法に準拠しているが、個々の施設が適切な技能を有しているかの確認を行うため、外部精度管理が求められている。

外部精度管理調査において使用する試料として、市販食品から調製した実試料 (incurred sample) を用いる場合、より実際の検査試料に近い検体を提供できる反面、特定原材料の添加状況は不明で、ロット間差等の情報もないため、試料の調製に時間を要する。本研究では昨年度調製した実試料と従来実施している基材に特定原材料を添加し、調製する試料の 2 種類を外部精度管理調査研究の調査試料とし、パイロットスタディを行った。

参加 22 機関は 2 種の試料について特定原材料である卵について ELISA 法による測定を行った。各機関からの報告値は試料毎および測定キット毎にまとめ、メジアン・クリーニング (MC) に続いてロバスト方式により統計値の算出を行った。得られた数値から  $\bar{X}$ -R 管理図を代用した解析および  $z$ -スコアの算出を実施した。

本研究において、MC により除外された機関は認められなかった。 $\bar{X}$  管理図においては管理限界線の範囲を超える機関は認められず、 $R$  管理図では管理限界線を超える機関は全体で延べ 2 機関が認められた。また、 $z$ -スコアの絶対値が 3 以上となる機関は全体で 1 機関が認められた。

実試料と従来法で作製した試料はともに、均質性および試験期間中の安定性が確認された。また、回収したデータにおいては両試料ともに各キットにおける標準偏差および相対標準偏差に大きな差は認められず、解析結果についてもほぼ等しい結果となった。したがって、今回供試した実試料は、外部精度管理調査の試料として問題がないことが示唆された。

## A. 研究目的

日本における食の多様化に伴い、もともとの文化である和食から洋食が日常的となった。また、外食や持ち帰りにより、自分たちで調理をしない食事が当たり前となり、調理済みの食品の購入や、弁当等を利用する中食という概念も広がっている。

食の形態のみならず、実際に国民が摂取する食物も常に新しい品種が市場へ紹介され、多岐にわたっている。近年の食物アレルギーの症例に関する統計では、国民の食生活の変化がよくわかる結果となっており、それに合わせて、2023年には特定原材料に「くるみ」が追加された。さらに、2024年3月には特定原材料に準ずるものから「まつたけ」が削除され、「マカデミアナッツ」が登録された。しかしながら、卵、牛乳、小麦については食物アレルギーの症例調査において常に上位を占めており、これらの食物が多くの人に摂取されていることが推察できる。特にこれらの3品は市販の加工食品によく使用されていることから、我々の調査研究においても食品衛生検査施設等の試験実績において常に上位を占めている。

特定原材料検査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「アレルギーを含む食品の検査方法」に記載されているように、通知法に準拠したELISAキットを用いてスクリーニングを行うこととなっている。スクリーニング試験であるので、陽性検体の取りこぼしが起こることは避けなければならない。

キットのロット間差については、各施設で確認することは可能であるが、施設間差についての確認は難しい。

そのため外部精度管理調査により他施設と

の技能の比較を行い、必要に応じて手技の見直しを行うことは重要である。

我々がこれまで行ってきた外部精度管理調査に関するパイロットスタディでは、特定原材料不含の基材に、標的となる特定原材料を添加し、均質性の確認された試料を用いてきた。実際の検査では、検体となる市販食品の多くは熱や圧力等により加工されており、特定原材料の種類によってはこの工程で特性が変わることはこれまでに報告されている。このため実試料市販食品から調製した実試料(included sample)を用いての外部精度管理調査は実際の試験状況に即していると考えられる。

本研究では、昨年、市販食品から調製し、均質性を確認した実試料<sup>1)</sup>を調査試料の一つとして供試し、比較として従来通りに特定原材料不含基材に特定原材料を添加して調製した試料を加え、外部精度管理調査のパイロットスタディを実施した。

## B. 方法

### 1. 試薬及び食品

タンパク質含量の測定は、2-D Quant Kit (Cytiva)を用いた。

従来法で調製する試料には、基材にイチゴジャム(ソントン)を使用した。これに添加する特定原材料には、卵として乾燥全卵(乾燥全卵No.1、キューピータマゴ)を使用した。

また、昨年度調製した実試料はコールスロードレッシング(乳化液状ドレッシング、以下ドレッシング)から調製を行い、特定原材料は卵であった<sup>1)</sup>。

## 2. ELISA 法

### 1) ELISA キット

特定原材料である卵の検出には、通知法に準拠した ELISA キットを使用した。

#### 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、プリマハムキット]

### 2) 試験操作

ELISA 法は各キットの取扱説明書に従い実施した。

吸光度測定および濃度計算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.) を用いて行った。

## 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

基材のイチゴジャムは、ELISA 法により、標的タンパク質である卵が検出限界 (基材中 0.31  $\mu\text{g/g}$ ) 以下であることを確認した。

### 2) 添加用タンパク質の調製

#### i) 添加用卵タンパク質の調製

乾燥全卵を精製水と 1:3 で合わせ、均一になるよう十分懸濁し、これを添加用卵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のタンパク質

含量は、2-D Quant Kit により測定した。測定値から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 (従来法による試料)

基材に卵タンパク質を加え、ることで、従来法による試料を作製した。基材であるイチゴジャム中のタンパク質量が卵総タンパク質相当で 10.0  $\mu\text{g/g}$  となるように添加用卵タンパク質調製液を添加し、ロボ・クーブブリクサー 5 プラス (エフ・エム・アイ) を用いて均質化した。

作製した試料は小分けにし、 $-20^{\circ}\text{C}$  で凍結保存して、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. 市販品から調製した外部精度管理調査試料 (実試料)

外部精度管理調査試料として供試する市販品から調製した実試料には、昨年度の厚労科研費で卵含有ドレッシングから調製した試料<sup>1)</sup>を用いた。

品質評価試験として均質性についてはすでに確認済みであったことから、本年度は安定性試験のみを行った。

## 5. 品質評価方法

品質評価として従来法による試料については均質性および安定性の確認を、実試料については安定性の確認を行った。均質性試験および安定性試験は「2. ELISA 法」に記載の卵検出用キット 3 種類を用いて実施した。

従来法による試料の均質性確認は、試料送付前 (試料作製後 1 か月以内) に行った。調製した試料のうち 10 容器からサンプリングを行い、各サンプルについて  $n=2$  で ELISA 法

により卵タンパク質濃度を測定した。均質性の評価は IUPAC に従った<sup>2)</sup>。使用した 3 キット中 2 キットで均質であった場合に試料が均質である、と判断した。

安定性試験については従来法による試料では調査期間終了後に  $n=4$  で試料を測定し、各キットについて均質性試験における卵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。実試料については調査期間の前後に各  $n=4$  で試料を測定し、各キットについて調査期間前の卵タンパク質含有量に対する調査期間後の数値を計算し、安定性を評価した。

なお、使用したキットはすべて使用期限内であり、従来法による試料の均質性試験と安定性試験および実試料の安定性試験ではメーカーごとに同じロットを用いた。

## 6. 外部精度管理調査の実施

調査に参加した 22 機関には調査試料 [実試料 (ドレッシング): 試料 1、従来法による試料 (イチゴジャム): 試料 2] と実施要領を宅配便 (冷凍) で送付した。

測定は、通知法に従い、「2. ELISA 法」に記載の卵検出用 3 キットのうち、任意の 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) に従うこととした。試験は 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。各機関の試験結果は試料送付後、約 1 か月後を提出期限とした。

## 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」、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、「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」と述べられている。したがって、参加機関からの報告値は、試料別、測定キット別に前出のロバスト方式による平均値、標準偏差 (SD) および相対標準偏差 (RSD) を算出した後、これらを付与値として解析を行った。

データ解析は、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)、2) Huber の proposal 2<sup>2,3)</sup> 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] による、各種統計量の算出、3)  $Xbar-R$  管理図を代用した方法と  $z$ -スコアによる方法を用いた評価、の 3 ステップを実施した。

また、 $Xbar$  管理図の管理限界線の値は [ロバスト平均値  $\pm$  ロバスト平均値の  $30\%$ ] とした。 $z$ -スコアはロバスト方式による平均値および SD を用いて算出した。

また、参加機関から回収したアンケート結果のまとめも行った。

### (倫理面への配慮)

基材、添加特定原材料ともに食材であるが、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

調査試料の均質性試験結果は表 1 に示した。

昨年度実施した試料 1 の均質性試験結果はキット間差が認められる結果となっている (モリナガ:  $10.79 \pm 0.26 \mu\text{g/g}$ 、日本ハム:  $9.51 \pm 0.15 \mu\text{g/g}$ 、プリマハム:  $7.22 \pm 0.11 \mu\text{g/g}$ )。

試料 2 では、モリナガキットで最も低い含有量 ( $7.79 \pm 0.14 \mu\text{g/g}$ ) を示し、日本ハムキットとプリマキットではほとんど同じ結果となった (日本ハム:  $9.27 \pm 0.20 \mu\text{g/g}$ 、プリマハム:  $9.20 \pm 0.14 \mu\text{g/g}$ )。

一般的にキットの反応性の差は標的抗原の違い、または基材の影響によるものと考えられる。また、試料 1 では加工の影響による可能性も考えられたが、詳細については不明である。

試料の均質性については、試料 1 及び試料 2 ともにすべてのキットにおいて均質であるとの結果が得られた。したがって、両試料は均質であると判断した。

調査期間中の試料の安定性の結果は表 2 に示した。調査試料送付前の結果を 100 % とし、それぞれのキットについて算出した結果、試料 1 は 99.4 ~ 110.0 %、試料 2 は 101.3 ~ 103.9 % であり、どちらの試料についても調査期間中、安定であったと判断した。

#### 2) 外部精度管理調査結果

参加 22 機関からの報告値を試料別かつ測定キット別に統計解析を行った

結果は表 3 に、データ分布は図 1 に示した。ほとんどの機関では通知法に記載の通り 2 キットについて試験を行っていたが、1 機関は

1 キットのデータだけを提出した。

モリナガキットを使用したのは 22 機関、日本ハムキットは 21 機関、プリマハムキットを使用した機関はなかった。

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および安定性試験の平均値と近い値を示した。また、測定値による RSD は、試料 1 では 6.33 ~ 7.90 %、試料 2 では 7.38 ~ 8.95 % であり、試料間、キット間ともに大きな差は認められなかった。

### 3) キット別集計結果

#### (1) モリナガキット

モリナガキットを用いて測定した 22 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

モリナガキットによる試料 1 の測定では、MC で除外された機関は認められなかった。全機関の平均値は  $11.89 \pm 0.94 \mu\text{g/g}$  (RSD 7.90 %) 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越えた機関は 1 機関 (機関番号 14) 認められた (表 5、図 3)。この機関は同キットの試料 2 (表 6)、日本ハムキットの試料 1 および試料 2 (表 8 および表 9) では  $R=0.47 \sim 0.62$  と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 以上の機関は認められなかった [表 5、図 5 a)]。

##### b) 試料 2 の解析結果

モリナガキットによる試料 2 の測定では、MC で除外された機関は認められなかった。

全機関の平均値は  $8.60 \pm 0.63 \mu\text{g/g}$  (RSD 7.38 %) であった。 $\bar{X}$ 管理図で管理限界線を超えた機関はなかったが、 $R$ 管理図で上部管理限界線を超えた機関は 1 機関 (機関番号 9) 認められた (表 6、図 4)。この機関は同キットの試料 1 (表 5)、日本ハムキットの試料 1 および試料 2 (表 8 および表 9) では  $R=0.01 \sim 0.39$  と低値であったことから、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 以上の機関は認められなかった [表 6、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 21 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

日本ハムキットによる試料 1 の測定では、MC で除外された機関は認められなかった。全機関の平均値は  $9.65 \pm 0.61 \mu\text{g/g}$  (RSD 6.33 %) であった。 $\bar{X}$ 管理図および  $R$ 管理図で管理限界線外となった機関は存在しなかった (表 8、図 7)。 $z$ -スコアの絶対値が 3 以上の機関は 1 機関 (機関番号 5) 認められた [表 8、図 9 a)]。当該機関は検量線 [図 15 c)] に異常は認められず、報告値付近の検量線における RSD は 2~3 % 程度、当該機関が提出した 2 つの報告値における 3 ウェル間の RSD は 1.13 % および 0.99 % と十分に小さい値を示した。また、同じキットで測定した試料 2 においても全機関中、最も高い報告値を示したが、 $|z\text{-スコア}|$  は 2 未満であった (表 9)。モリナガキットにおいては試料 1、試料 2 とも  $|z\text{-スコア}| < 0.3$  とほぼ

平均に近い値を示し、問題は認められなかった (表 5 および表 6)。したがって、当該機関では日本ハムキット、特に試料 1 において  $z$ -スコアが高くなる傾向が認められたが、原因については不明であった。

### b) 試料 2 の解析結果

日本ハムキットによる試料 2 の測定では、MC で除外された機関は認められなかった。全機関の平均値は  $9.29 \pm 0.83 \mu\text{g/g}$  (RSD 8.95 %) であった。 $\bar{X}$ 管理図、 $R$ 管理図および  $z$ -スコアのいずれにおいても管理限界線外の機関は認められなかった。[表 9、図 8、図 9 b)]

### (3) プリマハムキット

本研究でプリマハムキットを用いた機関はいなかった。

### (4) キットのロットと報告値について

使用キットのロットと報告値の関連については図 10 に示した。今回の外部精度管理調査研究では、モリナガキットにおいて 10 ロット、日本ハムキットにおいて 4 ロットが使用されていた。また、すべての機関はキットの使用期限内に試験を実施していた。

モリナガキット [図 10 a)] においては 1 機関のみが使用したロットは 6 ロット、2 機関が使用したロットは 2 ロットであった。したがって、各ロットにおいて得られた報告値が少なかったことから、ロット間差を比較することは難しいと考えられた。しかしながら、いずれのロットを用いた場合でも、試料 1 の報告値は試料 2 の報告値よりも高い値を示していた。

日本ハムキット [図 10 b)] では 1 機関のみが使用したロットは 2 ロット認められた。複数ロットを使用した 2 ロット (ロット番号の末尾 2 桁が 80 および 81) については顕著なロット間差は認められなかった。また、各ロットにおいて

試料 1 と試料 2 はほぼ同じ値を示していた。

#### (5) 検量線について

本調査研究では、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た結果、前出のように本年度はモリナガキットで 10 ロット、日本ハムキットで 4 ロットが使用された。

モリナガ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。また、各キットにおいて本調査研究で使用されたロットの情報は表 10 および表 11 に、各キットのロット別の検量線のグラフは図 13 および図 14 に示した。

モリナガキットではロットは多いがロット間差は特には認められなかった。上方で 95 %信頼区間外となった機関番号 19 と上方でかろうじて 95 %信頼区間内となった機関番号 16 については日本ハムキットの検量線においても他機関より吸光度が高く、機関番号 19 は最高濃度で上方の 95 %信頼区間とほぼ同じ値を示し、機関番号 16 では検量線全体が上方の 95 %信頼区間外となった。両機関は今回の調査研究において検量線の吸光度が他機関よりも高値を出す傾向にあった。しかしながら、両機関ともすべての試験系において $|z\text{-スコア}|$ は 2 未満であったことから、試験操作に問題はないと考えられた。

また、モリナガキットの試料 1、日本ハムキットの試料 1 および試料 2 において $z\text{-スコア}$ がすべての機関の最低値を出した機関番号 20 ( $|z\text{-スコア}|$ は 3 未満) ではどちらのキットにおいても検量線は 95 %信頼区間内にあった。線形は日本ハムキットでは最高濃度でやや低くなる傾向にあったが、報告値に関わる濃度域では問題は認められなかった。

検量線の線形は測定値に関わるため、背景データを比較して、明らかに異なる線形を示す

場合には、結果の判定に注意し、随時再試験を行うことが重要と考える。

#### (6) 報告値の相関性

##### a) 同一キットにおける試料間の報告値の相関性

各キットにおける試料 1 と試料 2 の報告値の相関を図 15 に示した。その結果、モリナガキットで 0.521 と中程度の相関が、日本ハムキットでは 0.831 と強い相関が認められた。また、モリナガキットではすべての機関において試料 1 は試料 2 よりも高い値を示した。日本ハムキットでは 3 機関以外はすべての機関で試料 1 は試料 2 よりも高い値を示したが、強い相関に表れているように、確率楕円がほぼ  $y=x$  に沿って伸びており、各機関における試料 1 と試料 2 の報告値は近い値であった。また、2 機関が 95 %確率楕円を外れていた。

##### b) 同一試料におけるキット間の報告値の相関性

各試料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 16 に示した。試料 1 では相関係数が 0.131 でほとんど相関は認められなかったが、1 機関を除くすべての機関においてモリナガキットの報告値は日本ハムキットの報告値よりも高い値を示した。試料 2 では 0.237 と中程度の相関を示し、3/4 程度の機関において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も高い値を示した。また、どちらの試料についても同じ 1 機関 (機関番号 20) を除き、すべての機関が 95 %確率楕円内に位置していた。

この確率楕円から外れた機関は同一キットにおける試料間の相関性を見た日本ハムキットの相関図においても確率楕円から外れていた。当該機関は  $Xbar$  管理図および  $z\text{-スコア}$  において外れ値ではなかったが、モリナガキッ

トで測定した試料 1、日本ハムキットで測定した試料 1 および試料 2 の結果でそれぞれ全期間中、最低値を示した。評価としては問題がなかったが、測定結果が恒常的に低値を示すと、陽性検体を偽陰性として検出する可能性が考えられることから、手技、使用機器の精度等の再確認が勧められる。

#### 4) 検査手法のまとめ

各参加機関が検査に用いた手法を表 12 および表 13 に示した。担当者の経験年数は複数回答を行った 7 機関中 6 機関で、経験年数が 0 年の担当者がいた。これにより、例年通り、各機関では、経験の少ない担当者による手技の確認を積極的に行っていると考えられた。

検査手法では ELISA 法のための試料調製において全機関が振とう機による抽出および遠心分離を実施していたが、ろ過を行っていたのは 22 機関中 16 機関であった。抽出液等の希釈操作は全機関が手動で作業を行っていた。検量線の近似曲線の計算はすべ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を使用していた。

天秤の校正はすべての機関で頻度の差はあるものの実施していたが、ピペットについては校正を行わない機関があった。これらの機関においては他機関と比較して明らかに  $z$ -スコアがすべて低値、または高値、ウェル間の相対標準偏差が高いなどの事象が認められた場合は、ピペットの自家点検等を行い、精度を確認する必要があると考えられた。

個々のキットの操作方法では、本研究で使われたモリナガキットと日本ハムキットの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いずれも 0 日（抽出当日使用）がほとんどで、次に 1 日保存となっていた。抽出翌日（1 日保存）に試験を行った機関は、すべて抽

出液を冷蔵保管していた。また、抽出から 4 日後に試験を行った機関では抽出液を冷凍保存していた。1 日以上保存を行った各機関の  $|z\text{-スコア}|$  はすべて 3 未満であり、各機関は抽出から測定まで抽出液を適切に管理していたと考えられた。

操作法全般を通して、 $Xbar$  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。

#### 5) 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（2022 年度）を表 14 および表 15 に示した。

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 1～6 機関で、全 6 種について試験を行ったのは 6 機関であった。

回答のあった 20 機関における ELISA 試験の総実施件数は 25,600 件ほどで、うち卵、乳、小麦がそれぞれ全体の 20 %程度を、そば、落花生、甲殻類がそれぞれ 12～13 %程度を占めていた。これらは例年の結果と大きな変化はなかった。

ELISA 法による試験において、陽性と判定された試験数は 2040 試験（8.0 %）であり、総試験数に対する比率は昨年と同じであった。また、6 種中もっとも陽性率が高かったのは小麦で、試験数 5206 件に対し 17.0 %が陽性であった。

確認試験としては 43 試験が行われており、甲殻類に対する確認試験が 16 試験と最も多く、次いで小麦の 9 試験であった。確認試験において陽性となった検体は各項目について 1～3 検体であった。



## 2. 外部精度管理調査試料としての実試料

外部精度管理調査試料として市販食品を用いる場合、市販食品は加工工程を経ており標的たんぱく質が変性している可能性があり、また、ロット間差の問題や多くは複数の材質の組み合わせであることなどから、均質に調製することは、単に基材へ標的タンパク質を添加した試料を調製するよりも困難であることが予想される。一方で、実際の検査業務の検体に近い試料であることから、実務における施設間差を検討する外部精度管理の試料としてはより適切であると考えられる。

安定した試料という点では検出対象である特定原材料の添加量がわからない市販食品由来の試料よりも、特定原材料不含の基材に適量の標的タンパク質を添加した従来の試料は、基材の影響を検出しやすく、また、加工工程のないことから、通常は添加した標的たんぱく質自体の極端な変性等は考えにくく、得られた結果は単純に施設間の技能を反映していると考えられる。

本研究で供試した実試料である試料 1 は、前述の通り昨年度、市販食品のドレッシングから調製し、均質性の確保がされている試料である。今回のパイロットスタディでは、均質性試験において実試料である試料 1 の RSD 値が、従来法で調製した調査試料である試料 2 の RSD 値とほぼ同じ値を示した。安定性試験における RSD 値についても同様に、品質に関して実試料は従来法で作製した試料とほぼ同等と考えられた。

また、両試料の解析結果を比較すると以下のようになった。

モリナガキットによる結果では、両試料とも、 $\bar{X}$  管理図、 $z$ -スコアにおいて不満足の結果を示した機関はなく、 $R$  管理図ではそれぞ

れ 1 機関ずつが不満足の結果となった (表 5 及び表 6)。 $R$  管理図で不満足となったのは試料 1 と試料 2 で異なる機関であり、両機関とも他のキットでは問題がなかったことから、偶発的な要因と推察された。また、 $z$ -スコアは、試料 1 では 1 機関を除き、試料 2 ではすべての機関で  $|z\text{-スコア}|$  が 2 未満となった。この機関の  $z$ -スコアは 2.005 であり、試料 2 で最も高かった別機関の  $z$ -スコアが 1.952 であることから、両試料の結果に差は認められないと結論した。

日本ハムキットを用いた試験では試料 1 で 1 機関が  $|z\text{-スコア}|$  が 3 以上となった。しかし、その他の機関および試料 2 ではすべての機関で、 $z$ -スコアでの外れ値は認められなかった。また、試料 1 及び試料 2 についてすべての機関で  $\bar{X}$  管理図および  $R$  管理図で外れ値は認められなかった。日本ハムキットにおいて機関番号 20 は両試料で  $z$ -スコアが最低値となり、 $|z\text{-スコア}|$  は 2 以上 3 未満を示した。また、機関番号 5 及び機関番号 9 はどちらの試料でも  $z$ -スコアが最高値及び次に高い値を示した。両機関ともモリナガキットでは全体の中央に近い  $z$ -スコアであることから、両機関は日本ハムキットにおいて高めの結果を出したと考えられ、試料に起因した結果ではないことが推察された。

以上のように、本研究で使用した実試料である試料 1 と従来試料である試料 2 には試験試料としての差はほとんど認められず、実試料は外部精度管理試料として使用可能であることが示唆された。

市販食品を用いた実試料については添加量の情報がないため、複数食品のスクリーニングから実施する必要があるため、また、外部精度管理調査試料として配布できるだけの量を

確保するためにロット間差等の確認も必須で、試料調製までに時間がかかる。今回対象となったドレッシングは乳化液状ドレッシングであり、均質化のしやすい形状であったが、現状としては定期的に行う試験の試料として市販加工食品を供試することが困難である。調製方法の効率化が今後の課題と考えられる。

## E. 結論

本年度実施した外部精度管理調査に関するパイロットスタディでは、特定原材料として卵たんぱく質を含有した2試料を調査試料として用いた。試料1としては、昨年度、市販食品から調製した実試料 (incurred sample) を、試料2としては従来の方法で気合に卵タンパク質を添加し、作製した試料を採用した。

パイロットスタディでは参加22機関から回収したデータについてMC後、ロバスト方式による統計解析を実施した。解析はキットごとおよび試料ごとに行った。いずれの解析でも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 $\bar{X}$ -R管理図を代用した方法による評価およびzスコアの算出を行った。

その結果、 $\bar{X}$ -R管理図では管理限界線の範囲を超えた機関は認められず、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、zスコアの絶対値が3以上となった機関は全体で1機関であった。

試料1の実試料と試料2の従来法による作製試料について比較したところ、特段の差は認められなかった。

## 参考文献

- 1) 渡辺卓穂他、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、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 (2023)

- 2) M. Thompson et al., 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).

- 3 Analytical Methods Committee, Robust statistics - How Not to Reject Outliers, Part 1. Basic concepts, Analyst, vol. 114, 1693-1697 (1989).

## 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

1)若栗忍、渡辺卓穂:アレルギー(卵及び牛乳タンパク質)含有試料を用いた特定原材料検査の技能試験プログラムのためのパイロットスタディ、第119回日本食品衛生学会学術講演会、舟堀、2023

## 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の結果

| キットメーカー | 試料 1*           |         |     | 試料 2            |         |     |
|---------|-----------------|---------|-----|-----------------|---------|-----|
|         | 平均±SD<br>(µg/g) | RSD (%) | 均質性 | 平均±SD<br>(µg/g) | RSD (%) | 均質性 |
| モリナガ    | 10.79±0.26      | 2.41    | 均質  | 7.79±0.14       | 1.80    | 均質  |
| 日本ハム    | 9.51±0.15       | 1.58    | 均質  | 9.27±0.20       | 2.16    | 均質  |
| プリマハム   | 7.22±0.11       | 1.52    | 均質  | 9.20±0.14       | 1.52    | 均質  |

SD:標準偏差、RSD:相対標準偏差

n=10

\* 試料 1 の均質性は昨年度実施

表 2 外部精度管理調査研究試料の安定性試験の結果

|      |             | 含量(μg/g)         |        |             |        | 安定性 (%) |       |
|------|-------------|------------------|--------|-------------|--------|---------|-------|
| 試料   | キット<br>メーカー | 試験前              |        | 試験後         |        |         |       |
|      |             | 平均               | ± SD   | 平均          | ± SD   | 平均      | ± SD  |
| 試料 1 | モリナガ        | 11.85            | ± 0.12 | 11.77       | ± 0.18 | 99.4    | ± 1.6 |
|      | 日本ハム        | 9.40             | ± 0.11 | 10.00       | ± 0.07 | 106.4   | ± 0.8 |
|      | プリマハム       | 6.50             | ± 0.08 | 7.15        | ± 0.09 | 110.0   | ± 1.3 |
| 試料 2 | モリナガ        | [ 7.79 ± 0.14 ]* |        | 7.89 ± 0.13 | 101.3  | ± 1.7   |       |
|      | 日本ハム        | [ 9.27 ± 0.20 ]* |        | 9.47 ± 0.12 | 102.2  | ± 1.2   |       |
|      | プリマハム       | [ 9.20 ± 0.14 ]* |        | 9.56 ± 0.11 | 103.9  | ± 1.1   |       |

SD:標準偏差

n=4

\* 試料 2 は均質性の値を使用 (n=10)

表 3 参加機関の報告値による解析結果

| 試料   | キット  | 有効機関数 | 平均値±SD<br>(µg/g) | RSD (%) | 卵添加量<br>(µg/g) |
|------|------|-------|------------------|---------|----------------|
| 試料 1 | モリナガ | 22    | 11.89±0.94       | 7.90    | — *            |
|      | 日本ハム | 21    | 9.65±0.61        | 6.33    |                |
| 試料 2 | モリナガ | 22    | 8.60±0.63        | 7.38    | 10.0           |
|      | 日本ハム | 21    | 9.29±0.83        | 8.95    |                |

SD:標準偏差、RSD:相対標準偏差

\* 実試料 (incurred sample) のため未添加

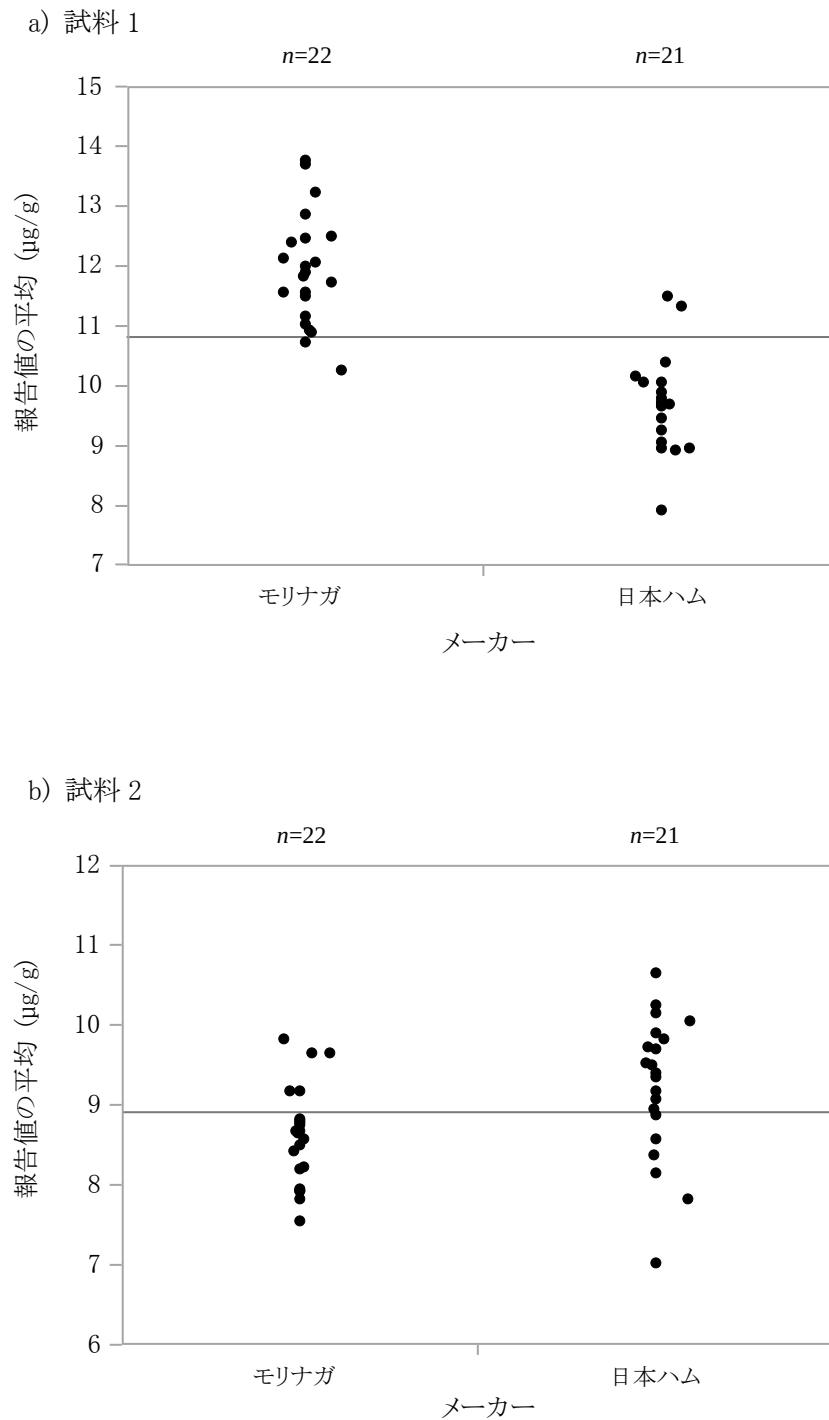


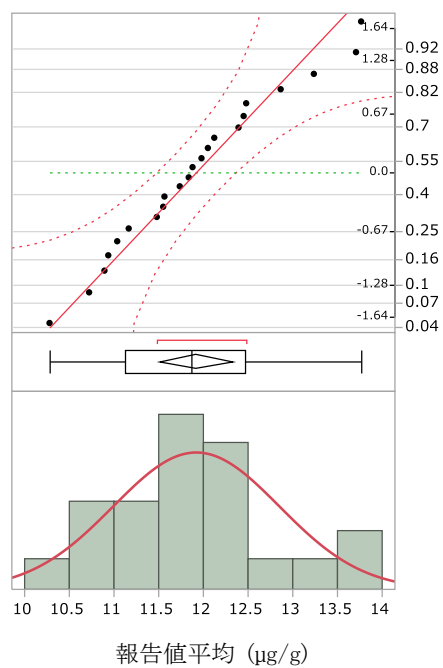
図 1 外部精度管理調査研究試料におけるキットごとのデータ分布

表 4 モリナガキットによる測定結果の統計量一覧

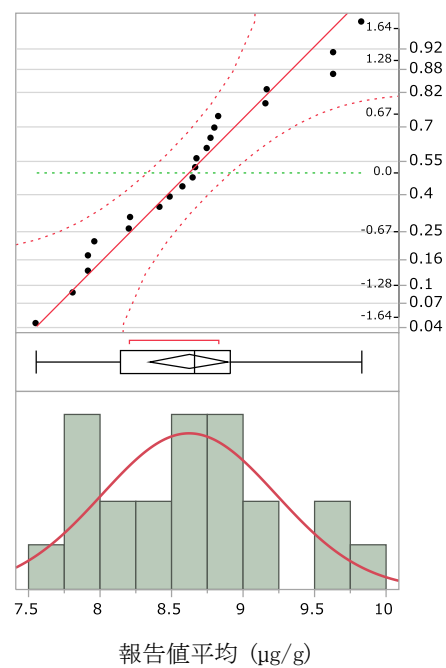
| 試料名            |                       | 試料 1     | 試料 2    |
|----------------|-----------------------|----------|---------|
| 統計量の種類         |                       | ロバスト方式   | ロバスト方式  |
| MC による除外機関     |                       | 0        | 0       |
| データ (有効機関) 数   |                       | 22       | 22      |
| 測定<br>の<br>統計量 | 平均値 (μg/g)            | 11.89    | 8.60    |
|                | 標準偏差 (μg/g)           | 0.94     | 0.63    |
|                | 相対標準偏差 (%)            | 7.90     | 7.38    |
|                | 第 1 四分位数 (Q1)* (μg/g) | 11.1325  | 8.14375 |
|                | 中央値 (メジアン)* (μg/g)    | 11.865   | 8.66    |
|                | 第 3 四分位数 (Q3)* (μg/g) | 12.46625 | 8.91375 |
|                | 最大値 * (μg/g)          | 13.775   | 9.83    |
|                | 最小値 * (μg/g)          | 10.28    | 7.555   |
|                | 範囲 * (μg/g)           | 3.495    | 2.275   |
|                | 四分位範囲 * (μg/g)        | 1.33375  | 0.77    |
| 測定<br>の<br>差   | R の平均 (μg/g)          | 0.47     | 0.28    |
|                | 上部管理限界 (μg/g)         | 1.54     | 0.91    |

\* 出力値

a) 試料 1



b) 試料 2



(機関数 22)

図 2 モリナガ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 モリナガキットによる試料 1 の結果および評価一覧

| 機関<br>番号 | 試料 1 の報告値<br>( $\mu\text{g/g}$ ) |       | $\bar{X}$ 管理図                    |    | $R$ 管理図                    |     | $z$ -スコア |    |
|----------|----------------------------------|-------|----------------------------------|----|----------------------------|-----|----------|----|
|          | 1                                | 2     | $\bar{X}$<br>( $\mu\text{g/g}$ ) | 評価 | $R$<br>( $\mu\text{g/g}$ ) | 評価  | $z$ -スコア | 評価 |
| 20       | 10.36                            | 10.20 | 10.280                           | 満足 | 0.16                       | 満足  | -1.713   | 満足 |
| 18       | 11.45                            | 9.99  | 10.720                           | 満足 | 1.46                       | 満足  | -1.245   | 満足 |
| 8        | 10.91                            | 10.88 | 10.895                           | 満足 | 0.03                       | 満足  | -1.059   | 満足 |
| 13       | 11.25                            | 10.64 | 10.945                           | 満足 | 0.61                       | 満足  | -1.005   | 満足 |
| 6        | 11.11                            | 10.96 | 11.035                           | 満足 | 0.15                       | 満足  | -0.910   | 満足 |
| 9        | 11.17                            | 11.16 | 11.165                           | 満足 | 0.01                       | 満足  | -0.771   | 満足 |
| 10       | 11.51                            | 11.47 | 11.490                           | 満足 | 0.04                       | 満足  | -0.426   | 満足 |
| 19       | 11.69                            | 11.42 | 11.555                           | 満足 | 0.27                       | 満足  | -0.356   | 満足 |
| 1        | 11.47                            | 11.67 | 11.570                           | 満足 | 0.20                       | 満足  | -0.340   | 満足 |
| 4        | 11.60                            | 11.88 | 11.740                           | 満足 | 0.28                       | 満足  | -0.160   | 満足 |
| 15       | 11.82                            | 11.87 | 11.845                           | 満足 | 0.05                       | 満足  | -0.048   | 満足 |
| 7        | 11.83                            | 11.94 | 11.885                           | 満足 | 0.11                       | 満足  | -0.005   | 満足 |
| 21       | 12.37                            | 11.60 | 11.985                           | 満足 | 0.77                       | 満足  | 0.101    | 満足 |
| 5        | 12.07                            | 12.05 | 12.060                           | 満足 | 0.02                       | 満足  | 0.181    | 満足 |
| 22       | 12.55                            | 11.70 | 12.125                           | 満足 | 0.85                       | 満足  | 0.250    | 満足 |
| 2        | 12.59                            | 12.22 | 12.405                           | 満足 | 0.37                       | 満足  | 0.548    | 満足 |
| 3        | 12.23                            | 12.69 | 12.460                           | 満足 | 0.46                       | 満足  | 0.606    | 満足 |
| 17       | 12.34                            | 12.63 | 12.485                           | 満足 | 0.29                       | 満足  | 0.633    | 満足 |
| 16       | 13.02                            | 12.73 | 12.875                           | 満足 | 0.29                       | 満足  | 1.048    | 満足 |
| 11       | 12.65                            | 13.83 | 13.240                           | 満足 | 1.18                       | 満足  | 1.436    | 満足 |
| 14       | 14.88                            | 12.55 | 13.715                           | 満足 | 2.33                       | 不満足 | 1.941    | 満足 |
| 12       | 13.62                            | 13.93 | 13.775                           | 満足 | 0.31                       | 満足  | 2.005    | 満足 |

評価基準

 $\bar{X}$ 管理図 満足:  $LCL(8.323) \leq \bar{X} \leq UCL(15.457)$  $R$ 管理図 満足:  $0 \leq R \leq UCL(1.54)$  $z$ -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 モリナガキットによる試料 2 の結果および評価一覧

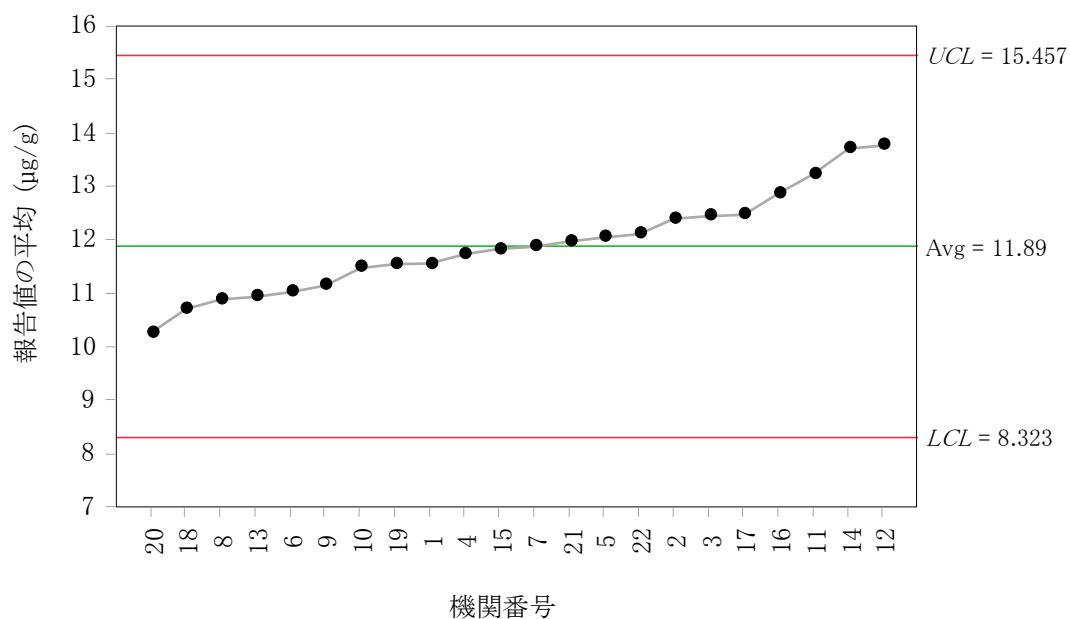
| 機関<br>番号 | 試料 2 の報告値<br>( $\mu\text{g/g}$ ) |      | $\bar{X}$ 管理図                    |    | $R$ 管理図                    |     | $z$ -スコア |    |
|----------|----------------------------------|------|----------------------------------|----|----------------------------|-----|----------|----|
|          | 1                                | 2    | $\bar{X}$<br>( $\mu\text{g/g}$ ) | 評価 | $R$<br>( $\mu\text{g/g}$ ) | 評価  | $z$ -スコア | 評価 |
| 13       | 7.50                             | 7.61 | 7.555                            | 満足 | 0.11                       | 満足  | -1.659   | 満足 |
| 19       | 7.81                             | 7.82 | 7.815                            | 満足 | 0.01                       | 満足  | -1.246   | 満足 |
| 6        | 8.01                             | 7.83 | 7.920                            | 満足 | 0.18                       | 満足  | -1.079   | 満足 |
| 18       | 8.01                             | 7.83 | 7.920                            | 満足 | 0.18                       | 満足  | -1.079   | 満足 |
| 1        | 7.80                             | 8.12 | 7.960                            | 満足 | 0.32                       | 満足  | -1.016   | 満足 |
| 11       | 8.58                             | 7.83 | 8.205                            | 満足 | 0.75                       | 満足  | -0.627   | 満足 |
| 8        | 8.16                             | 8.27 | 8.215                            | 満足 | 0.11                       | 満足  | -0.611   | 満足 |
| 16       | 8.42                             | 8.41 | 8.415                            | 満足 | 0.01                       | 満足  | -0.294   | 満足 |
| 20       | 8.60                             | 8.39 | 8.495                            | 満足 | 0.21                       | 満足  | -0.167   | 満足 |
| 4        | 8.34                             | 8.82 | 8.580                            | 満足 | 0.48                       | 満足  | -0.032   | 満足 |
| 22       | 8.44                             | 8.86 | 8.650                            | 満足 | 0.42                       | 満足  | 0.079    | 満足 |
| 15       | 8.62                             | 8.72 | 8.670                            | 満足 | 0.10                       | 満足  | 0.111    | 満足 |
| 9        | 9.26                             | 8.09 | 8.675                            | 満足 | 1.17                       | 不満足 | 0.119    | 満足 |
| 10       | 8.74                             | 8.76 | 8.750                            | 満足 | 0.02                       | 満足  | 0.238    | 満足 |
| 5        | 8.69                             | 8.87 | 8.780                            | 満足 | 0.18                       | 満足  | 0.286    | 満足 |
| 14       | 8.57                             | 9.04 | 8.805                            | 満足 | 0.47                       | 満足  | 0.325    | 満足 |
| 21       | 8.44                             | 9.22 | 8.830                            | 満足 | 0.78                       | 満足  | 0.365    | 満足 |
| 17       | 8.98                             | 9.35 | 9.165                            | 満足 | 0.37                       | 満足  | 0.897    | 満足 |
| 3        | 9.20                             | 9.14 | 9.170                            | 満足 | 0.06                       | 満足  | 0.905    | 満足 |
| 7        | 9.59                             | 9.69 | 9.640                            | 満足 | 0.10                       | 満足  | 1.651    | 満足 |
| 12       | 9.61                             | 9.67 | 9.640                            | 満足 | 0.06                       | 満足  | 1.651    | 満足 |
| 2        | 9.85                             | 9.81 | 9.830                            | 満足 | 0.04                       | 満足  | 1.952    | 満足 |

評価基準

 $\bar{X}$ 管理図 満足:  $LCL(6.020) \leq \bar{X} \leq UCL(11.180)$  $R$ 管理図 満足:  $0 \leq R \leq UCL(0.91)$  $z$ -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

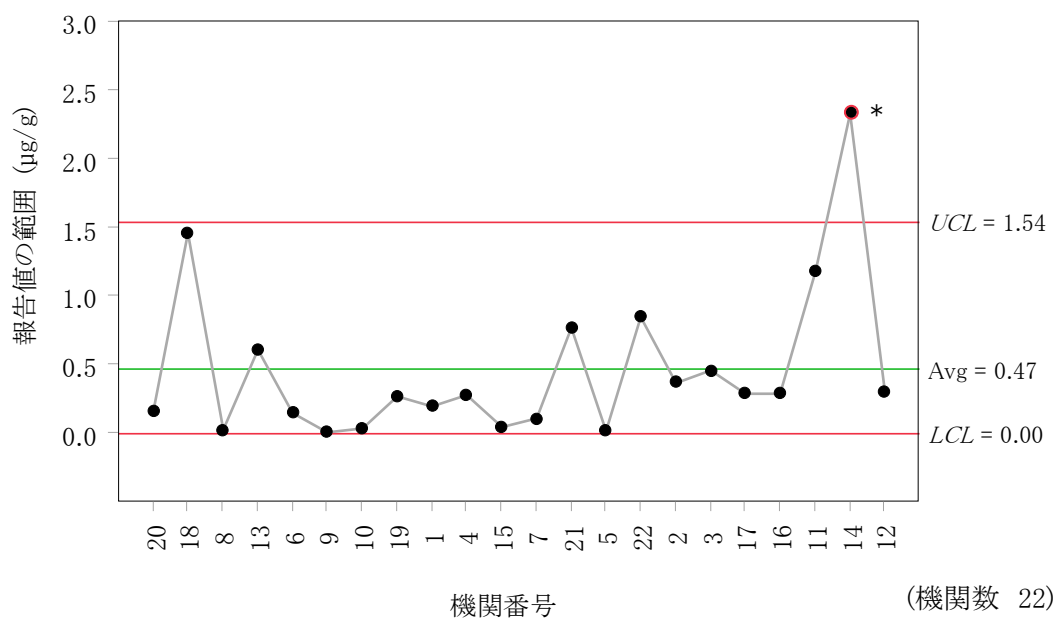
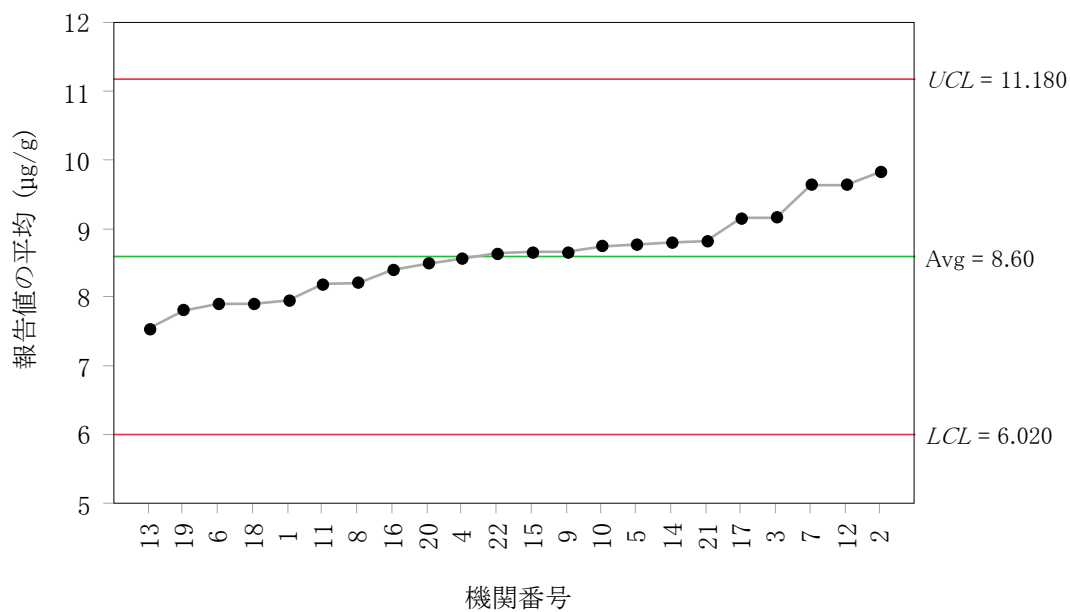


図3 モリナガキットを用いた試料1の測定結果 ( $\bar{X}$ - $R$ 管理図)

$\bar{X}$ 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 $\pm 30\%$

$R$ 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

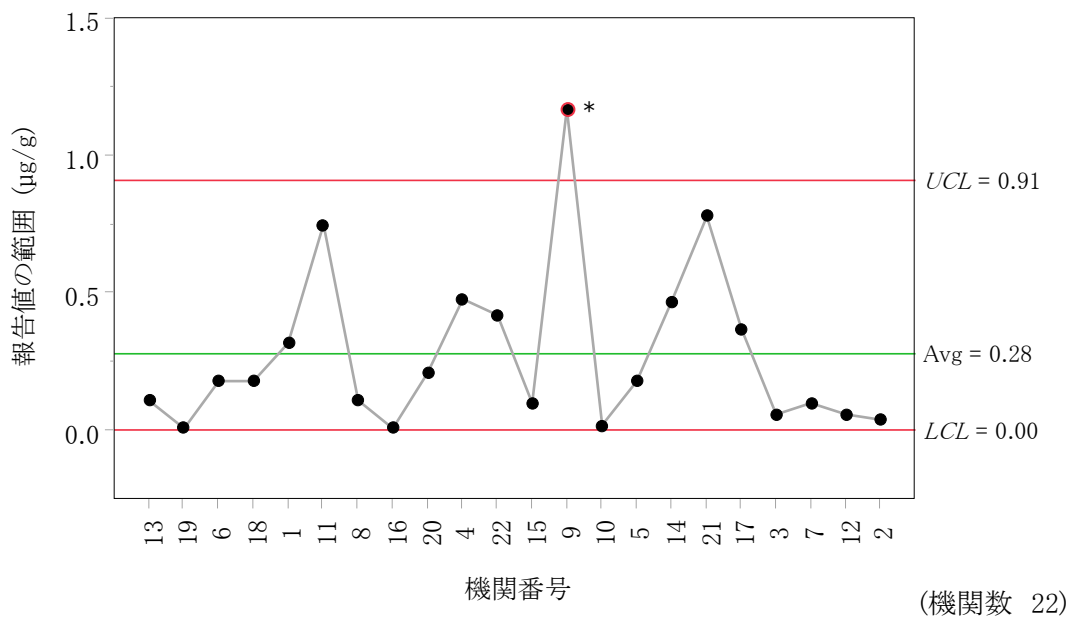
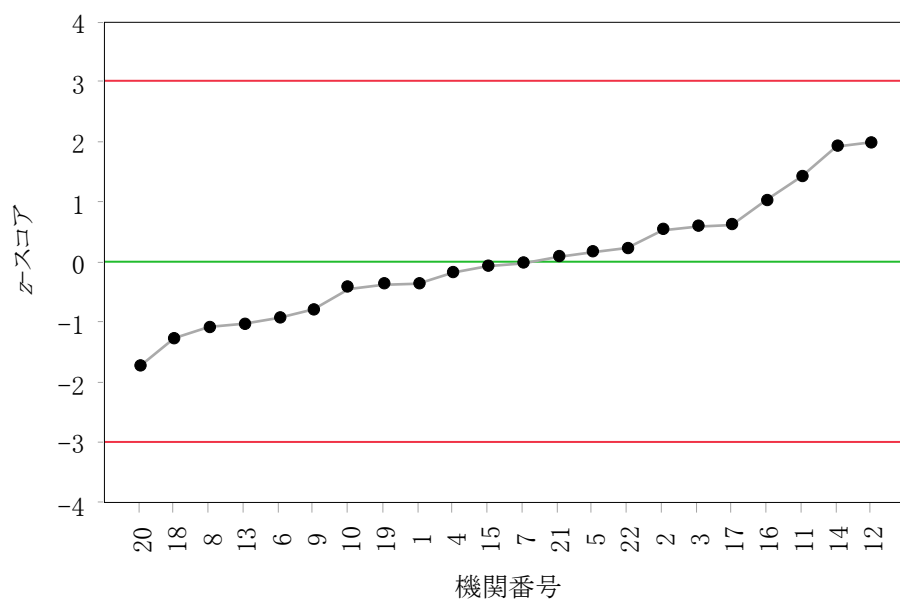


図4 モリナガキットを用いた試料2の測定結果 ( $\bar{X}$ - $R$ 管理図)

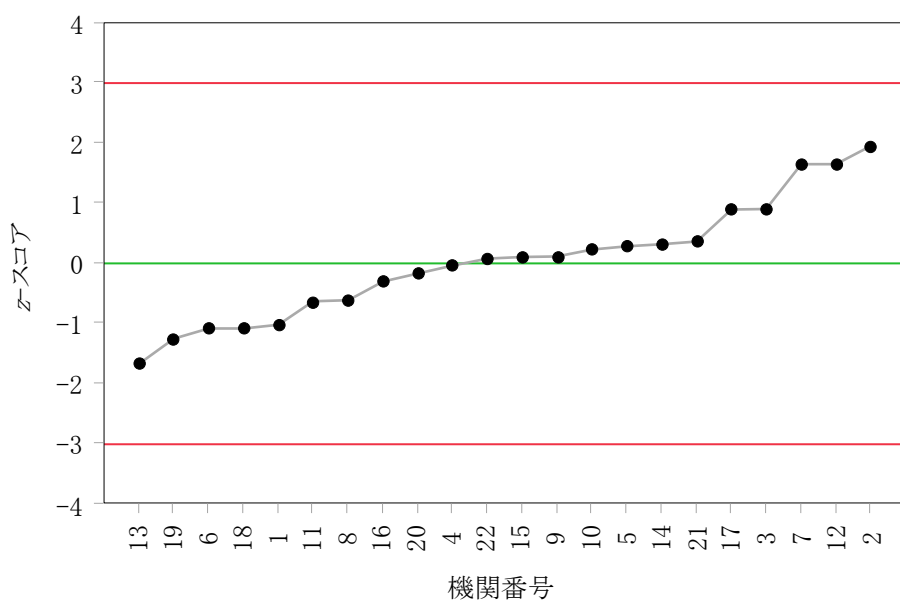
$\bar{X}$ 管理図 (a) の上部管理限界線 ( $UCL$ ) および下部管理限界線 ( $LCL$ ) はロバスト平均 $\pm 30\%$

$R$ 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) 試料 1



b) 試料 2



(機関数 22)

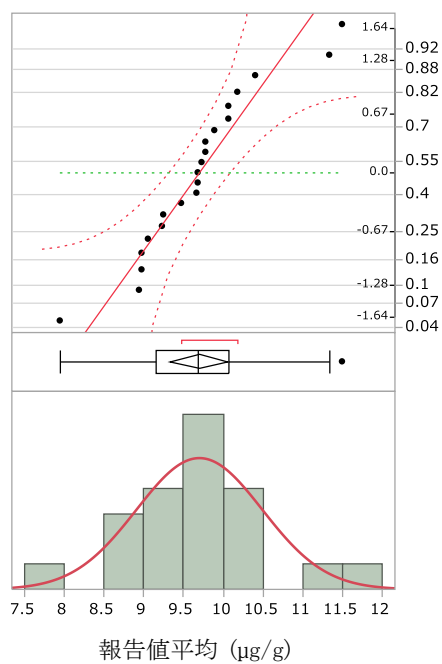
図 5 モリナガキットを用いた ELISA 法による測定結果 (Zスコア)

表 7 日本ハムキットによる測定結果の統計量一覧

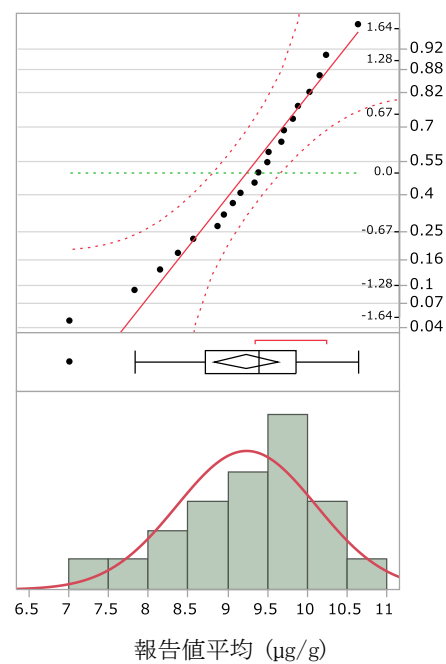
| 試料名            |                       | 試料 1   | 試料 2   |
|----------------|-----------------------|--------|--------|
| 統計量の種類         |                       | ロバスト方式 | ロバスト方式 |
| MC による除外機関     |                       | 0      | 0      |
| データ (有効機関) 数   |                       | 21     | 21     |
| 測定<br>の<br>統計量 | 平均値 (μg/g)            | 9.65   | 9.29   |
|                | 標準偏差 (μg/g)           | 0.61   | 0.83   |
|                | 相対標準偏差 (%)            | 6.33   | 8.95   |
|                | 第 1 四分位数 (Q1)* (μg/g) | 9.15   | 8.725  |
|                | 中央値 (メジアン)* (μg/g)    | 9.69   | 9.39   |
|                | 第 3 四分位数 (Q3)* (μg/g) | 10.07  | 9.8575 |
|                | 最大値* (μg/g)           | 11.51  | 10.645 |
|                | 最小値* (μg/g)           | 7.94   | 7.015  |
|                | 範囲* (μg/g)            | 3.57   | 3.63   |
|                | 四分位範囲* (μg/g)         | 0.92   | 1.1325 |
| 測定<br>の<br>差   | R の平均 (μg/g)          | 0.42   | 0.28   |
|                | 上部管理限界 (μg/g)         | 1.37   | 0.91   |

\*: 出力値

a) 試料 1



b) 試料 2



(機関数 21)

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<br>番号 | 試料 1 の報告値<br>( $\mu\text{g/g}$ ) |       | $\bar{X}$ 管理図                    |    | $R$ 管理図                    |    | $z$ -スコア |     |
|----------|----------------------------------|-------|----------------------------------|----|----------------------------|----|----------|-----|
|          | 1                                | 2     | $\bar{X}$<br>( $\mu\text{g/g}$ ) | 評価 | $R$<br>( $\mu\text{g/g}$ ) | 評価 | $z$ -スコア | 評価  |
| 20       | 8.26                             | 7.62  | 7.940                            | 満足 | 0.64                       | 満足 | -2.803   | 満足  |
| 4        | 9.02                             | 8.88  | 8.950                            | 満足 | 0.14                       | 満足 | -1.148   | 満足  |
| 18       | 9.42                             | 8.53  | 8.975                            | 満足 | 0.89                       | 満足 | -1.107   | 満足  |
| 19       | 8.98                             | 8.98  | 8.980                            | 満足 | 0.00                       | 満足 | -1.098   | 満足  |
| 10       | 9.15                             | 8.97  | 9.060                            | 満足 | 0.18                       | 満足 | -0.967   | 満足  |
| 12       | 9.49                             | 8.99  | 9.240                            | 満足 | 0.50                       | 満足 | -0.672   | 満足  |
| 22       | 8.97                             | 9.54  | 9.255                            | 満足 | 0.57                       | 満足 | -0.648   | 満足  |
| 15       | 9.71                             | 9.24  | 9.475                            | 満足 | 0.47                       | 満足 | -0.287   | 満足  |
| 3        | 9.93                             | 9.41  | 9.670                            | 満足 | 0.52                       | 満足 | 0.033    | 満足  |
| 16       | 9.93                             | 9.44  | 9.685                            | 満足 | 0.49                       | 満足 | 0.057    | 満足  |
| 14       | 10.00                            | 9.38  | 9.690                            | 満足 | 0.62                       | 満足 | 0.066    | 満足  |
| 6        | 9.73                             | 9.74  | 9.735                            | 満足 | 0.01                       | 満足 | 0.139    | 満足  |
| 7        | 10.08                            | 9.47  | 9.775                            | 満足 | 0.61                       | 満足 | 0.205    | 満足  |
| 8        | 9.68                             | 9.90  | 9.790                            | 満足 | 0.22                       | 満足 | 0.230    | 満足  |
| 17       | 10.10                            | 9.68  | 9.890                            | 満足 | 0.42                       | 満足 | 0.393    | 満足  |
| 21       | 10.23                            | 9.90  | 10.065                           | 満足 | 0.33                       | 満足 | 0.680    | 満足  |
| 1        | 9.81                             | 10.34 | 10.075                           | 満足 | 0.53                       | 満足 | 0.697    | 満足  |
| 2        | 10.63                            | 9.73  | 10.180                           | 満足 | 0.90                       | 満足 | 0.869    | 満足  |
| 13       | 10.52                            | 10.29 | 10.405                           | 満足 | 0.23                       | 満足 | 1.238    | 満足  |
| 9        | 11.15                            | 11.54 | 11.345                           | 満足 | 0.39                       | 満足 | 2.779    | 満足  |
| 5        | 11.64                            | 11.38 | 11.510                           | 満足 | 0.26                       | 満足 | 3.049    | 不満足 |

評価基準

 $\bar{X}$ 管理図 満足:  $LCL(6.755) \leq \bar{X} \leq UCL(12.545)$  $R$ 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:  $3 \leq |z\text{-スコア}|$

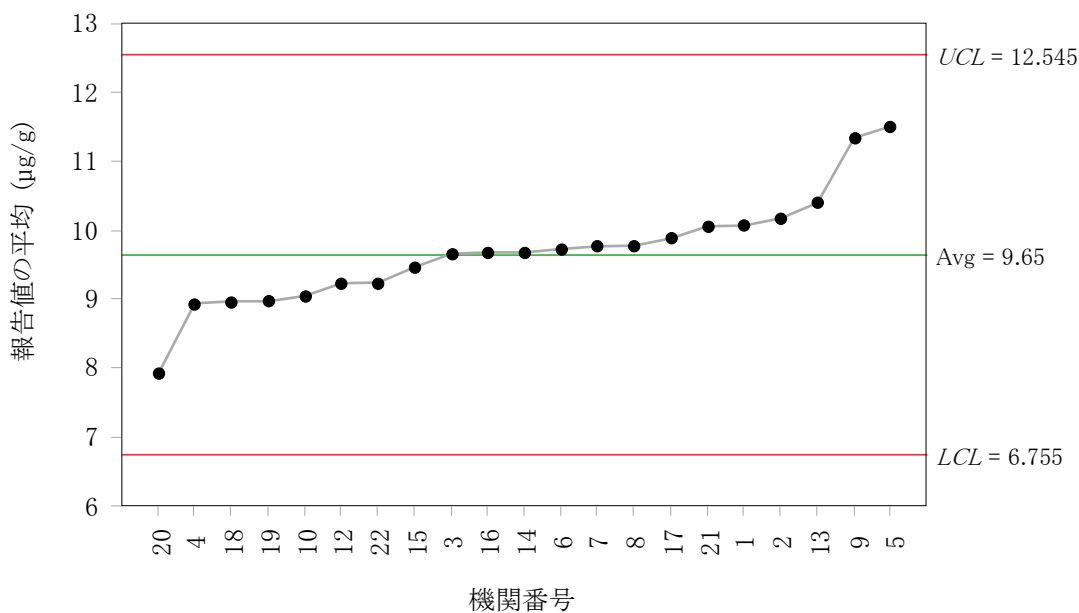
表 9 日本ハムキットによる試料 2 の結果および評価一覧

| 機関<br>番号 | 試料 2 の報告値<br>( $\mu\text{g/g}$ ) |       | $\bar{X}$ 管理図                    |    | $R$ 管理図                    |    | $z$ -スコア |    |
|----------|----------------------------------|-------|----------------------------------|----|----------------------------|----|----------|----|
|          | 1                                | 2     | $\bar{X}$<br>( $\mu\text{g/g}$ ) | 評価 | $R$<br>( $\mu\text{g/g}$ ) | 評価 | $z$ -スコア | 評価 |
| 20       | 7.14                             | 6.89  | 7.015                            | 満足 | 0.25                       | 満足 | -2.741   | 満足 |
| 16       | 7.90                             | 7.77  | 7.835                            | 満足 | 0.13                       | 満足 | -1.753   | 満足 |
| 19       | 8.27                             | 8.03  | 8.150                            | 満足 | 0.24                       | 満足 | -1.373   | 満足 |
| 10       | 8.35                             | 8.41  | 8.380                            | 満足 | 0.06                       | 満足 | -1.096   | 満足 |
| 18       | 8.56                             | 8.59  | 8.575                            | 満足 | 0.03                       | 満足 | -0.861   | 満足 |
| 22       | 8.44                             | 9.31  | 8.875                            | 満足 | 0.87                       | 満足 | -0.500   | 満足 |
| 4        | 9.26                             | 8.65  | 8.955                            | 満足 | 0.61                       | 満足 | -0.404   | 満足 |
| 15       | 9.08                             | 9.05  | 9.065                            | 満足 | 0.03                       | 満足 | -0.271   | 満足 |
| 6        | 9.24                             | 9.09  | 9.165                            | 満足 | 0.15                       | 満足 | -0.151   | 満足 |
| 3        | 9.62                             | 9.07  | 9.345                            | 満足 | 0.55                       | 満足 | 0.066    | 満足 |
| 7        | 9.59                             | 9.19  | 9.390                            | 満足 | 0.40                       | 満足 | 0.120    | 満足 |
| 14       | 9.27                             | 9.74  | 9.505                            | 満足 | 0.47                       | 満足 | 0.259    | 満足 |
| 8        | 9.50                             | 9.53  | 9.515                            | 満足 | 0.03                       | 満足 | 0.271    | 満足 |
| 2        | 9.60                             | 9.78  | 9.690                            | 満足 | 0.18                       | 満足 | 0.482    | 満足 |
| 17       | 9.66                             | 9.77  | 9.715                            | 満足 | 0.11                       | 満足 | 0.512    | 満足 |
| 12       | 9.94                             | 9.71  | 9.825                            | 満足 | 0.23                       | 満足 | 0.645    | 満足 |
| 1        | 9.96                             | 9.82  | 9.890                            | 満足 | 0.14                       | 満足 | 0.723    | 満足 |
| 13       | 10.11                            | 9.98  | 10.045                           | 満足 | 0.13                       | 満足 | 0.910    | 満足 |
| 21       | 9.77                             | 10.55 | 10.160                           | 満足 | 0.78                       | 満足 | 1.048    | 満足 |
| 9        | 10.31                            | 10.19 | 10.250                           | 満足 | 0.12                       | 満足 | 1.157    | 満足 |
| 5        | 10.44                            | 10.85 | 10.645                           | 満足 | 0.41                       | 満足 | 1.633    | 満足 |

評価基準

 $\bar{X}$ 管理図 満足:  $LCL(6.503) \leq \bar{X} \leq UCL(12.077)$  $R$ 管理図 満足:  $0 \leq R \leq UCL(0.91)$  $z$ -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

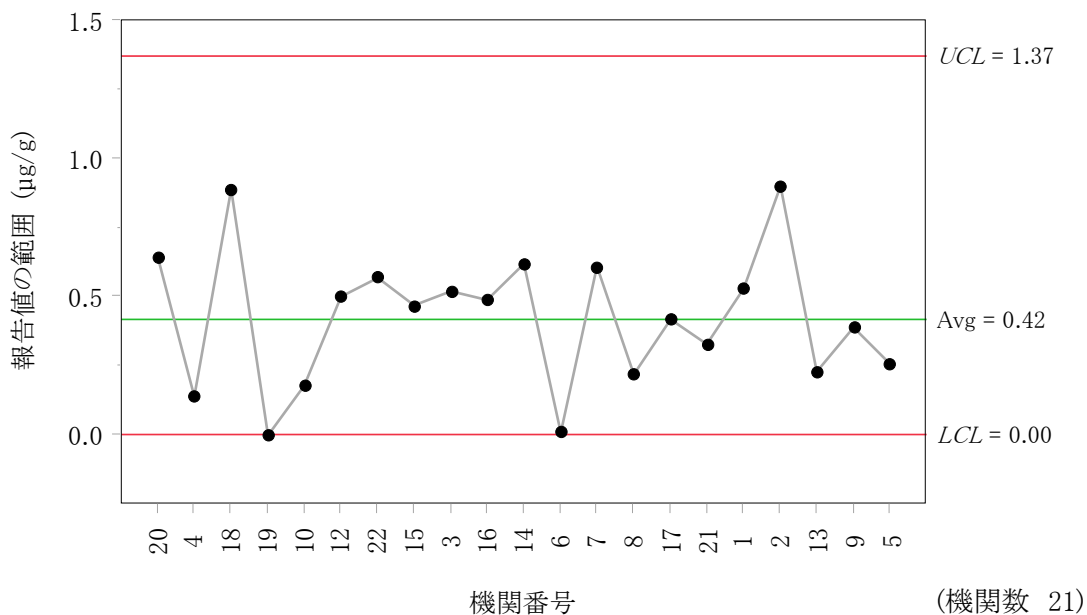


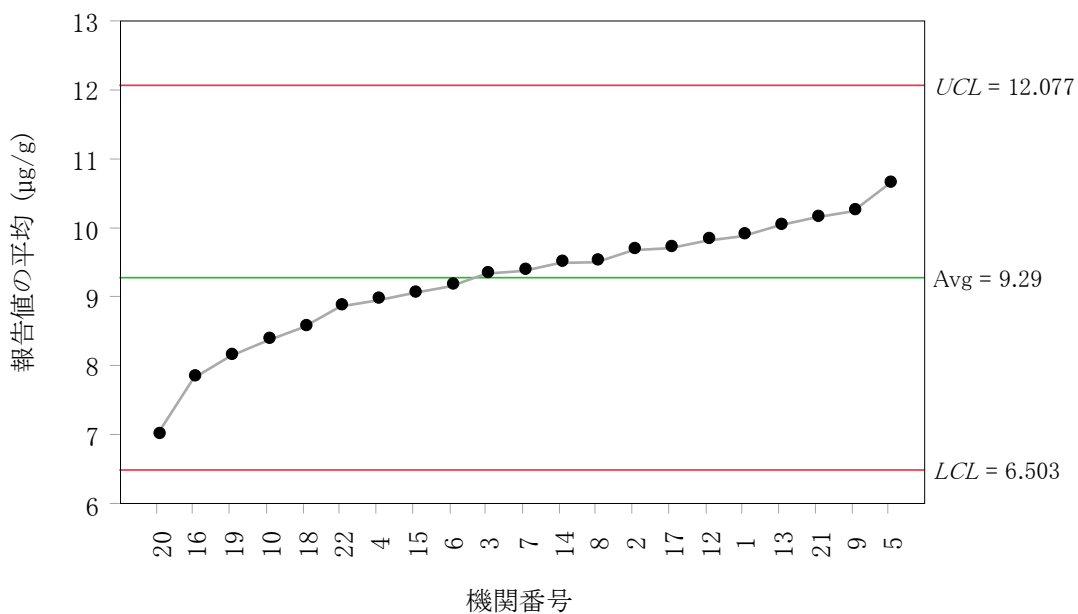
図7 日本ハムキットを用いた試料1の測定結果 ( $\bar{X}$ - $R$ 管理図)

$\bar{X}$ 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 $\pm 30\%$

$R$ 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

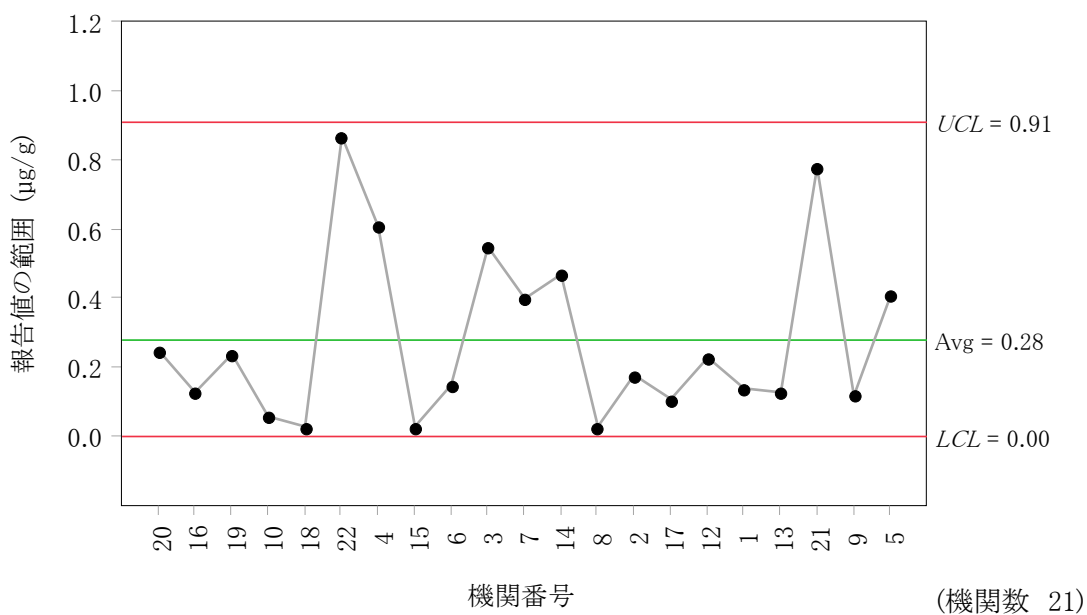
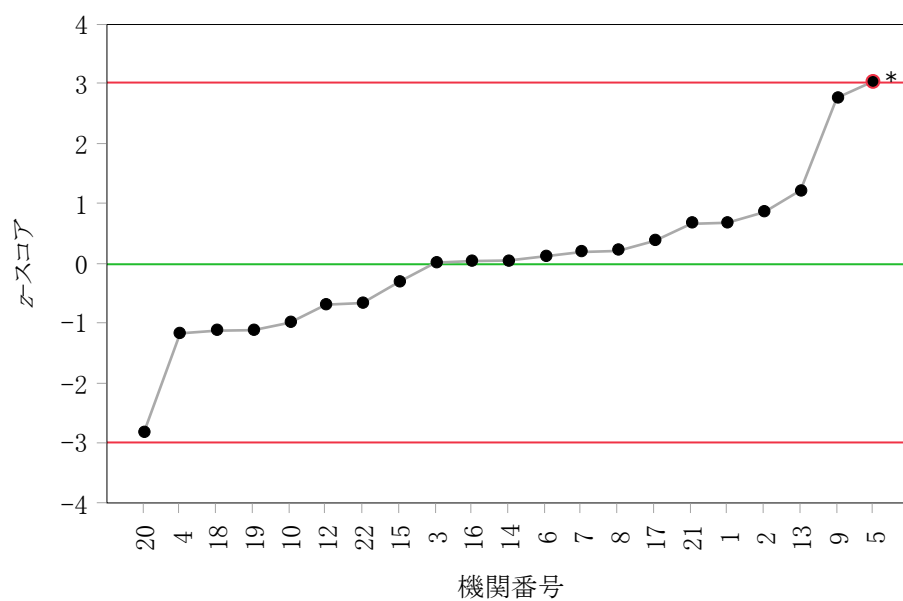


図8 日本ハムキットを用いた試料2の測定結果 ( $\bar{X}$ - $R$ 管理図)

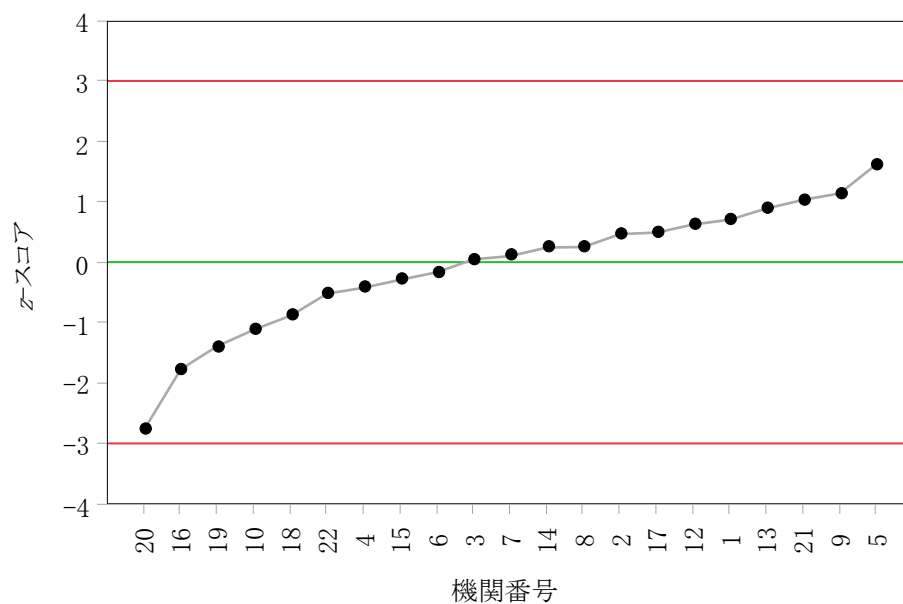
$\bar{X}$ 管理図 (a) の上部管理限界線 (UCL) および下部管理限界線 (LCL) はロバスト平均±30%

$R$ 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) 試料 1



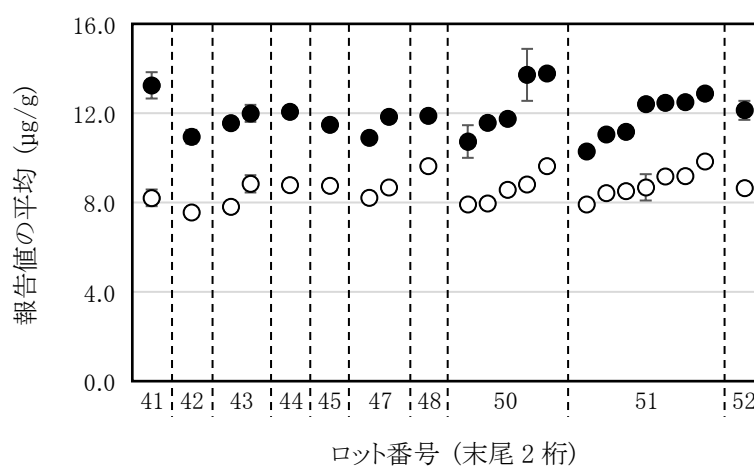
b) 試料 2



(機関数 21)

図 9 日本ハムキットを用いた ELISA 法による測定結果 (Z-スコア)

a) モリナガキット



b) 日本ハムキット

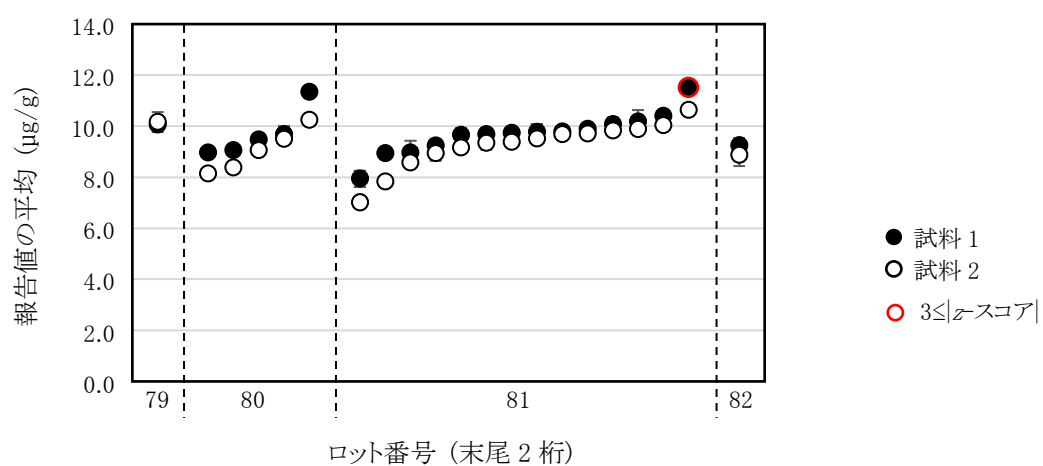


図 10 各キットで得られた報告値のロット間比較

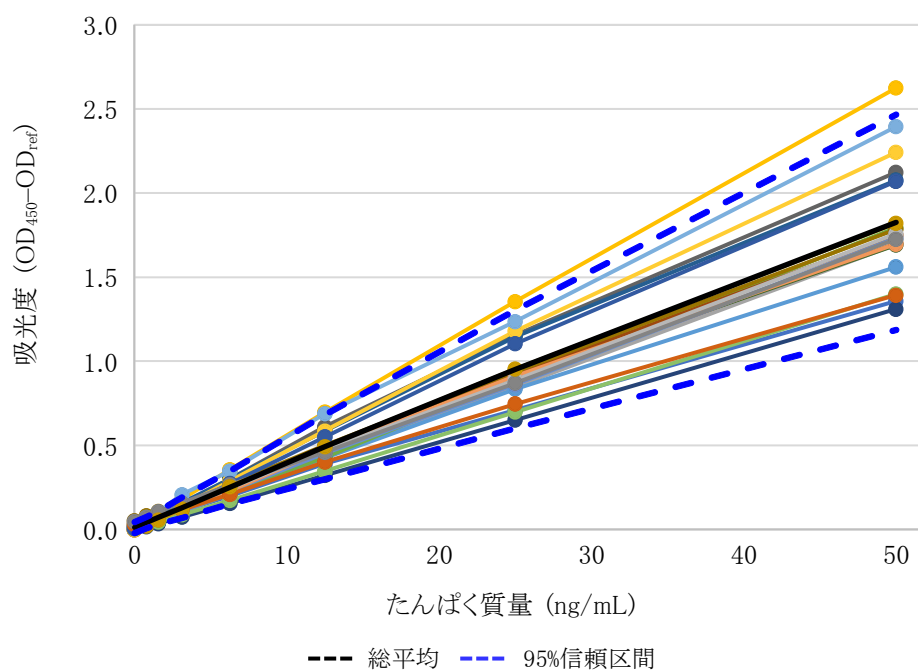


図 11 モリナガキットを用いた測定における検量線 (22 機関)  
ロット別検量線は図 13 を参照

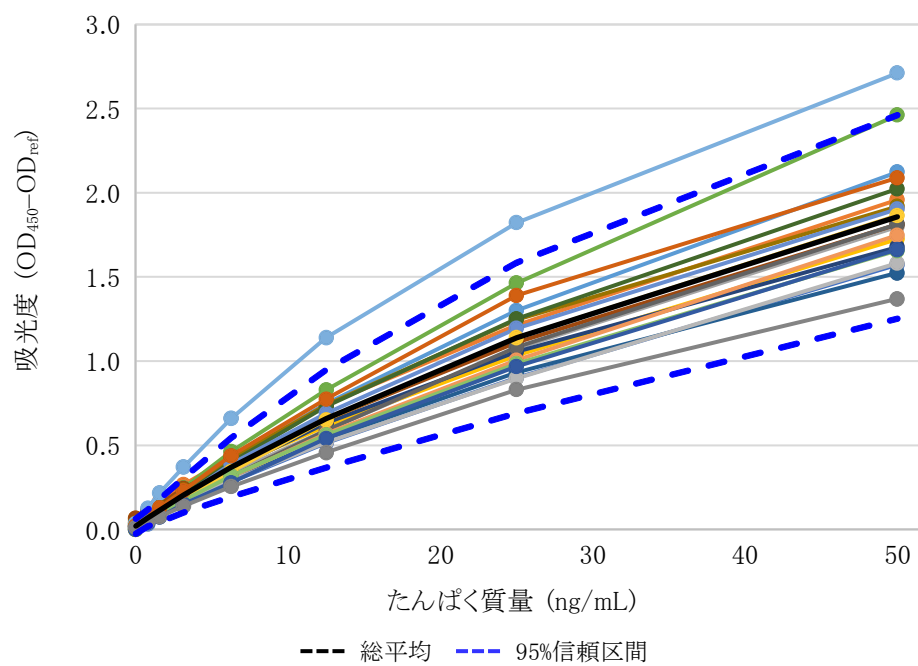


図 12 日本ハムキットを用いた測定における検量線 (21 機関)  
ロット別検量線は図 14 を参照

表 10 外部精度管理調査研究で使用されたモリナガ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 |
|-------------|-----------|-------|
| 22OCSFOA141 | 2023/10/7 | 1     |
| 22NOSFOA142 | 2023/11/1 | 1     |
| 22DESFOA143 | 2023/12/8 | 2     |
| 23FESFOA144 | 2024/2/2  | 1     |
| 23FESFOA145 | 2024/2/2  | 1     |
| 23APSFOA147 | 2024/4/6  | 2     |
| 23APSFOA148 | 2024/4/14 | 1     |
| 23JUSFOA150 | 2024/6/1  | 5     |
| 23JLSFOA151 | 2024/7/4  | 7     |
| 23AUSFOA152 | 2024/8/1  | 1     |

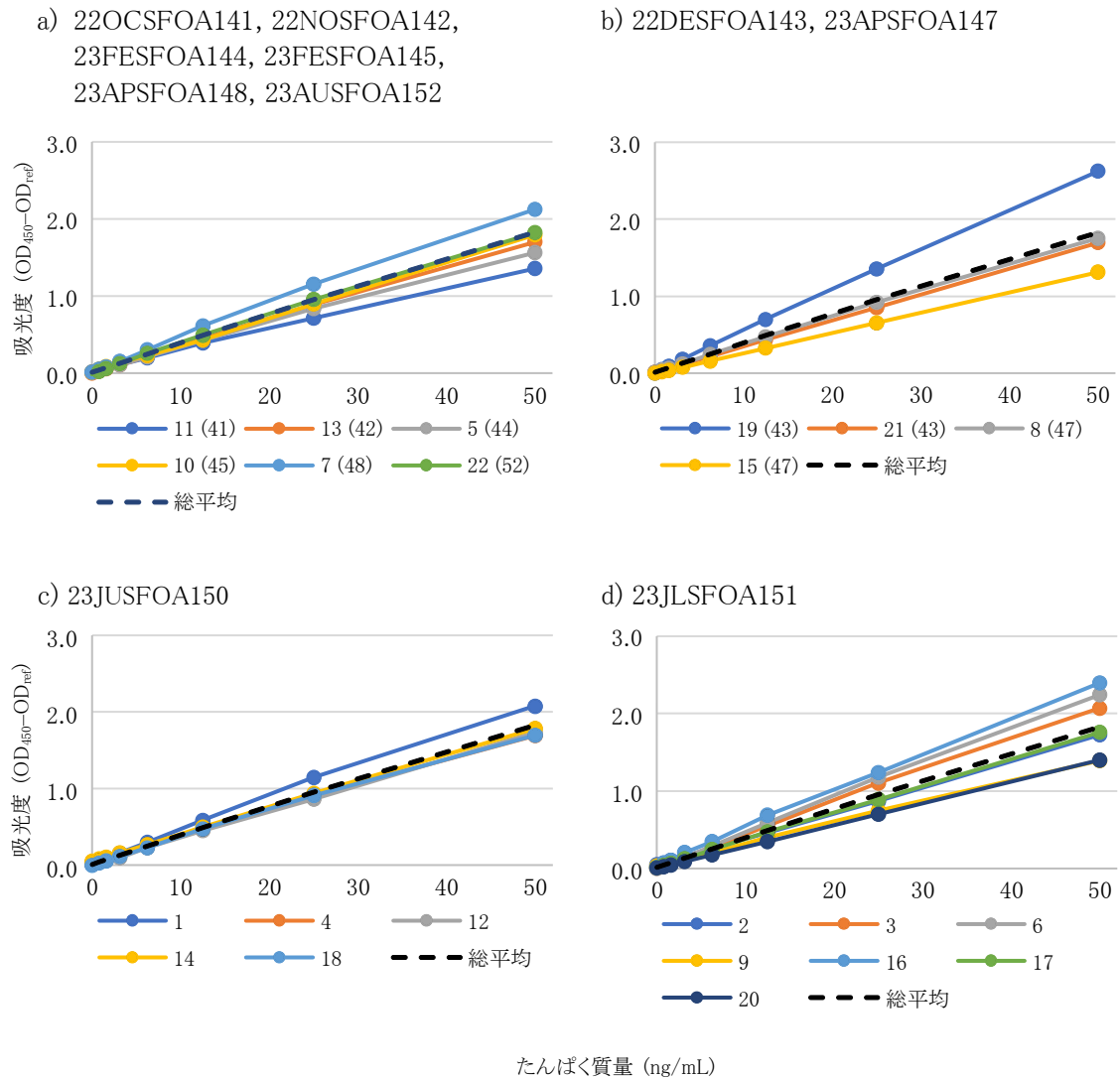


図 13 モリナガキットを用いた測定におけるロット別検量線

表 11 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 |
|----------|---------|-------|
| FKEE2279 | 2023/10 | 1     |
| FKEE2380 | 2023/12 | 5     |
| FKEE2381 | 2024/4  | 14    |
| FKEE2382 | 2024/6  | 1     |

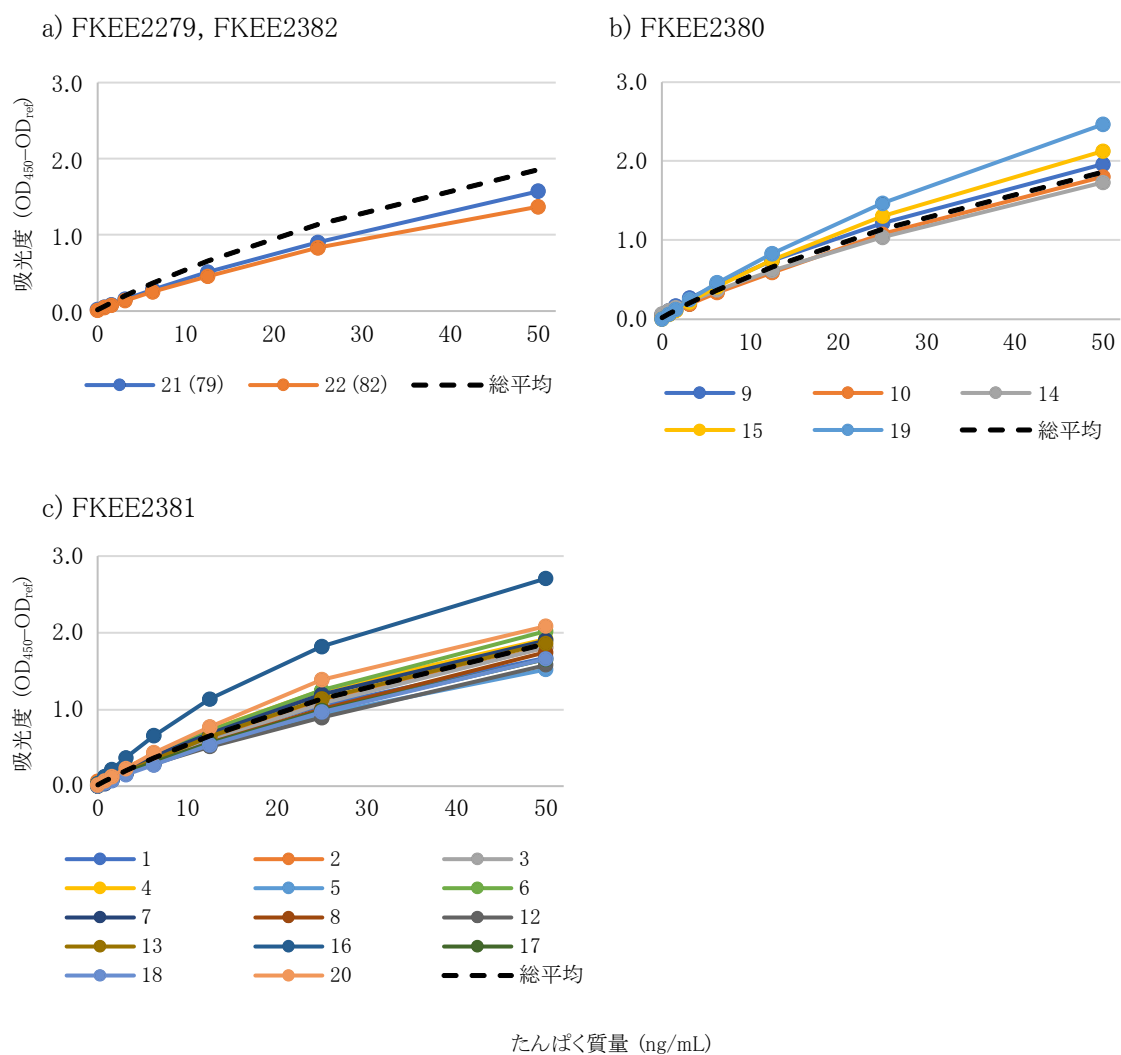
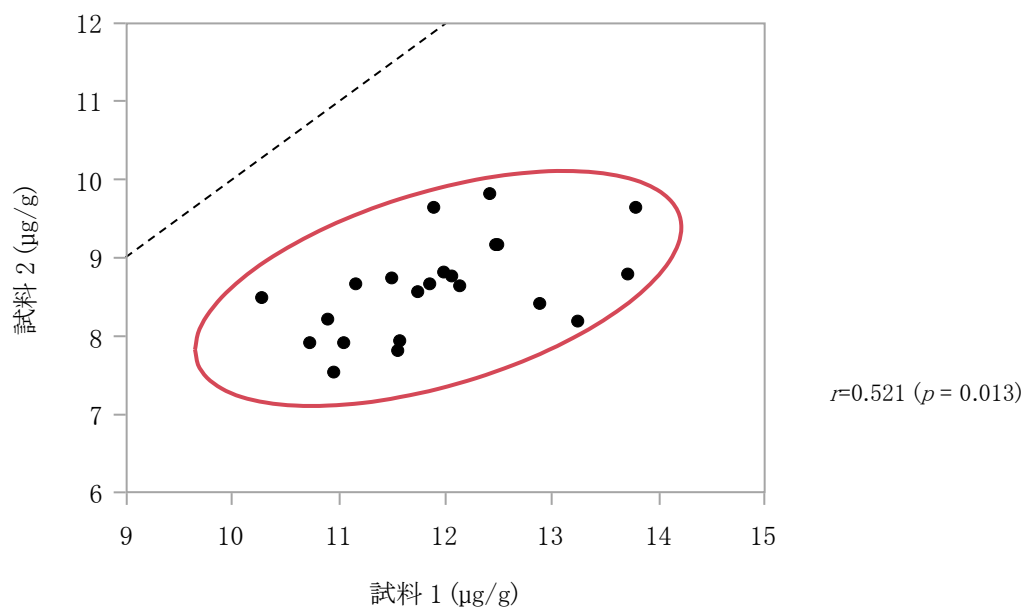


図 14 日本ハムキットを用いた測定におけるロット別検量線



a) モリナガキット (22 機関)



b) 日本ハムキット (21 機関)

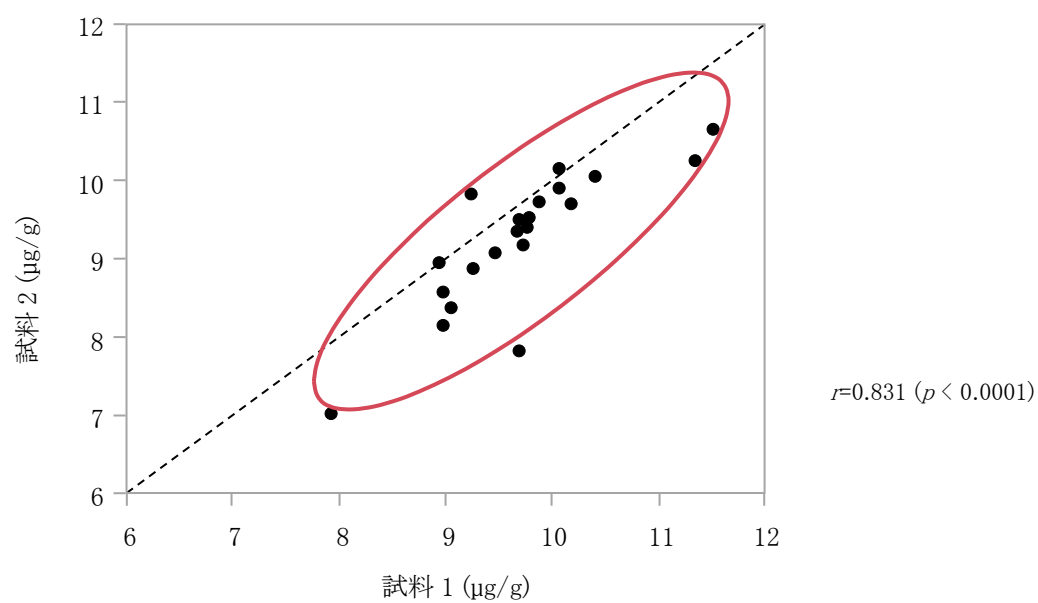
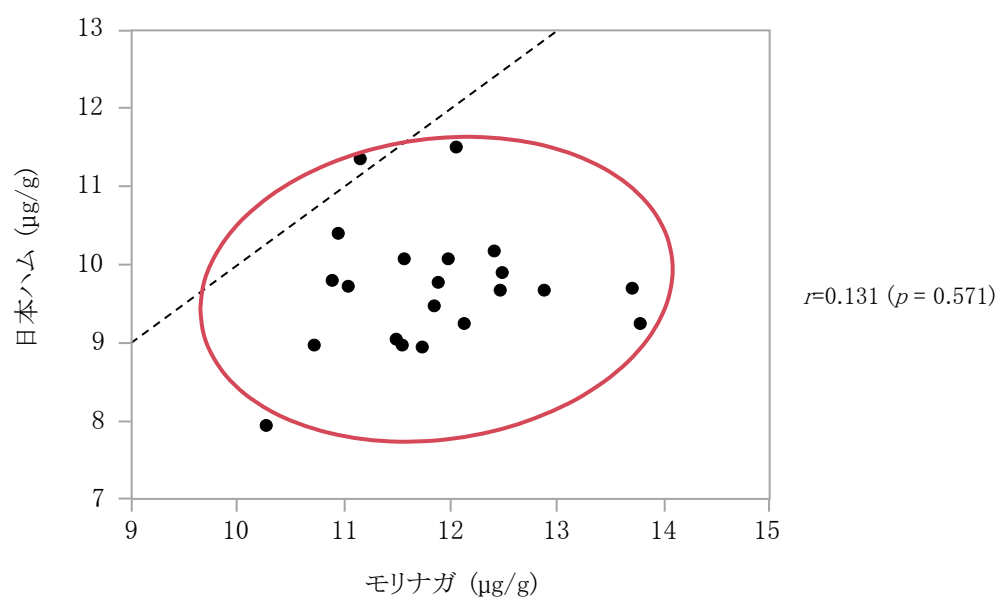


図 15 同一キットにおける試料間の報告値の相関性  
図中の楕円は 95 % 確率楕円を示す。点線は  $y = x$

a) 試料 1 (21 機関)



b) 試料 2 (21 機関)

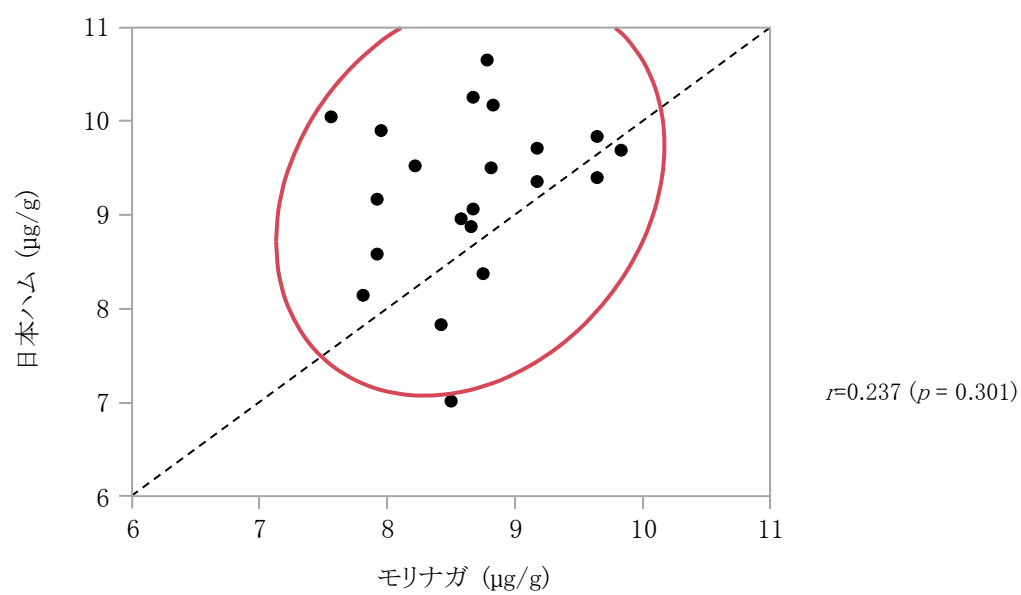


図 16 同一試料におけるキット間の報告値の相関性  
図中の楕円は 95 %確率楕円を示す。点線は $y = x$

表 12 2023 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 |
|                              | 11               | 4                 | 4          | 6       | 2       | 1    |
| 抽出方法                         | 振とう              | その他               |            |         |         |      |
|                              | 22               | 0                 |            |         |         |      |
| 振とう時間<br>(h)                 | 12 未満            | 12 - 16 未満        | 16 - 20 未満 | 20 以上   |         |      |
|                              | 0                | 8                 | 12         | 2       |         |      |
| 振とう速度<br>(rpm)               | 90 未満            | 90 - 110          | 110 超      |         |         |      |
|                              | 0                | 22                | 0          |         |         |      |
| ろ過                           | 実施               | 実施せず <sup>a</sup> |            |         |         |      |
|                              | 16               | 6                 |            |         |         |      |
| 遠心分離                         | 実施               | 実施せず <sup>a</sup> |            |         |         |      |
|                              | 22               | 0                 |            |         |         |      |
| 抽出液等<br>の希釈操作                | 手動               | 自動                |            |         |         |      |
|                              | 22               | 0                 |            |         |         |      |
| 試薬のプレート<br>への添加 <sup>a</sup> | 手動               |                   |            |         |         |      |
|                              | 連続分注             |                   | マルチ ch     | シングル ch | 電動      | 自動   |
|                              | マルチ ch           | シングル ch           |            |         |         |      |
|                              | 0                | 3                 | 18         | 1       | 0       | 0    |
| 洗浄方法                         | 手動               | 自動                |            |         |         |      |
|                              | 11               | 11                |            |         |         |      |
| マイクロプレート<br>リーダーのメーカー        | TECAN            | ThermoFisher      | Corona     | Bio-Rad | Bio Tek | その他  |
|                              | 2                | 9                 | 2          | 6       | 1       | 2    |
| 検量線の<br>回帰法                  | 4PL <sup>b</sup> | その他               |            |         |         |      |
|                              | 22               | 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    |         |      |
|                              | 12               | 2                 | 1          | 7       |         |      |
| 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                 | 0          | 0       |         |      |

a 複数回答有

(22 機関)

b 4PL: 4 パラメーターロジスティック

表 13 2023 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) モリナガキット（22 機関）、使用ロット数 10 ロット

| 項目              | 回答区分   |          |            |            |     |
|-----------------|--------|----------|------------|------------|-----|
|                 | 1      | 2        | 3          | 4          | 5   |
| 抽出液の<br>保存期間（日） | 0      | 1        | 2          | 3-7        | > 7 |
|                 | 17     | 4        | 0          | 1          | 0   |
| 抽出液の<br>保存条件    | 室温     | 冷蔵       | 冷凍(-50℃以上) | 冷凍(-50℃未満) |     |
|                 | 0      | 4        | 1          | 0          |     |
| 試料添加時間<br>（分）   | 10 以内  | 10-20 以内 | 20-30 以内   | 30 超       |     |
|                 | 15     | 7        | 0          | 0          |     |
| 操作中の室温<br>（範囲）  | 20℃ 未満 | 20-30℃   | 30℃ 超      |            |     |
|                 | 0      | 22       | 0          |            |     |

b) 日本ハムキット（21 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<br>保存期間（日） | 0      | 1        | 2          | 3-7        | > 7   |
|                 | 16     | 4        | 0          | 1          | 0     |
| 抽出液の<br>保存条件    | 室温     | 冷蔵       | 冷凍(-50℃以上) | 冷凍(-50℃未満) |       |
|                 | 0      | 4        | 0          | 1          |       |
| 試料添加時間<br>（分）   | 10 以内  | 10-20 以内 | 20-30 以内   | 30 超       |       |
|                 | 15     | 5        | 1          | 0          |       |
| 操作中の室温<br>（範囲）  | 20℃ 未満 | 20-25℃   | 25℃ をはさむ上下 | 25-30℃     | 30℃ 超 |
|                 | 0      | 13       | 4          | 4          | 0     |

表 14 2022 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 | 2                | 1 | 2 | 4 | 2 | 3 | 6 |

(回答 20 機関)

表 15 2022 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 法 | 実施機関 (20 機関中)        | 15               | 16               | 14               | 11               | 9                | 11               |
|         | 総試験数                 | 5073<br>(19.8 %) | 5432<br>(21.2 %) | 5206<br>(20.3 %) | 3232<br>(12.6 %) | 3225<br>(12.6 %) | 3428<br>(13.4 %) |
|         | 陽性検出機関               | 7                | 2                | 4                | 1                | 2                | 4                |
|         | 検出試験数                | 453              | 476              | 883              | 37               | 46               | 145              |
|         | 陽性率 (%)              | 8.9              | 8.8              | 17.0             | 1.1              | 1.4              | 4.2              |
|         | 使用キット [複数回答] (20 機関) |                  |                  |                  |                  |                  |                  |
|         | 日本ハム                 | 16               | 17               | 14               | 11               | 9                | —                |
| 確認試験    | モリナガ                 | 16               | 17               | 14               | 10               | 8                | —                |
|         | プリマハム                | 0                | 0                | 0                | 0                | 0                | —                |
|         | ニッスイ                 | —                | —                | —                | —                | —                | 10               |
|         | マルハ                  | —                | —                | —                | —                | —                | 11               |
|         | 実施機関 (20 機関中)        | 2                | 1                | 3                | 1                | 2                | 3                |
|         | 総試験数                 | 3                | 3                | 9                | 6                | 6                | 16               |
|         | 陽性検出機関               | 2                | 1                | 2                | 1                | 1                | 1                |
|         | 検出試験数                | 3                | 2                | 3                | 1                | 1                | 3                |

令和 5 年度 特定原材料検査外部精度管理調査研究参加機関

宮城県保健環境センター

新潟市衛生環境研究所

千葉県衛生研究所

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 食品安全検査センター

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

三重県保健環境研究所

高知県衛生環境研究所

福岡市保健環境研究所

佐賀県衛生薬業センター

地方独立行政法人 大阪健康安全基盤研究所

一般財団法人 食品分析開発センターSUNATEC

日東ベスト株式会社

日本生活協同組合連合会

パルシステム生活協同組合連合会

株式会社 ゼンショーホールディングス

名古屋製酪株式会社 開発本部 バイオ開発室

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

星薬科大学