

## アレルギー物質を含む食品の検査方法について(変更箇所)

新	旧
<p>(別添1) アレルギー物質を含む食品の検査方法</p> <p>1. (略)</p> <p>2. 特定原材料等の検査方法 (略) ・これらの検査方法の評価にあたって、<u>別添5</u>として添付した「アレルギー物質を含む食品の検査方法を評価するガイドライン」に準拠していること。</p> <p>(略)</p> <p>2.2.3.5.2. そばを対象とした検査結果の判定 植物DNA検出用プライマー対を用いたレーンで124 bpのPCR増幅バンドが検出され、そば検出用プライマー対を用いたレーンで127 bpのPCR増幅バンドが検出された場合、本検査対象検体はそば陽性と判定する。なお、結果判定の手順、判定例、ならびに注意事項は2.2.3.5.1.記載の落花生を対象とした検査結果の判定に同じ。</p> <p>2.2.3.5.3. 小麦を対象とした検査結果の判定 植物DNA検出用プライマー対を用いたレーンで124 bpのPCR増幅バンドが検出され、小麦検出用プライマー対を用いたレーンで141bpのPCR増幅バンドが検出された場合、本検査対象検体は小麦陽性と判定する。なお、結果判定の手順、判定例、ならびに注意事項は2.2.3.5.1.記載の落花生を対象とした検査結果の判定に同じ。 (略)</p> <p>2.3. 「2.1. 定量検査法」に改良を加えた定量検査法 <u>「2.1. 定量検査法」で示した検査方法(以下「従来法」という。)に改良を加えた定量検査法(改良検査法)については、(別添6)「アレルギー物質を含む食品の検査方法の改良法の評価に関するガイドライン」により性能を評価し、従来法と同等以上の性能を有することを示した場合には、従来法と同様にアレルギー物質を含む食品の検査方法として使用することが認められるものとする。</u></p> <p>3. (略)</p> <p>(別添2) (略)</p>	<p>(別添1) アレルギー物質を含む食品の検査方法</p> <p>1. (略)</p> <p>2. 特定原材料等の検査方法 (略) ・これらの検査方法の評価にあたって、<u>参考</u>として添付した「アレルギー物質を含む食品の検査方法を評価するガイドライン」に準拠していること。</p> <p>(略)</p> <p>2.2.3.5.2. そばを対象とした検査結果の判定 植物DNA検出用プライマー対を用いたレーンで124 bpまたは<u>370-470 bp</u>のPCR増幅バンドが検出され、そば検出用プライマー対を用いたレーンで127 bpのPCR増幅バンドが検出された場合、本検査対象検体はそば陽性と判定する。なお、結果判定の手順、判定例、ならびに注意事項は2.2.3.5.1.記載の落花生を対象とした検査結果の判定に同じ。</p> <p>2.2.3.5.3. 小麦を対象とした検査結果の判定 植物DNA検出用プライマー対を用いたレーンで124 bpまたは<u>370-470 bp</u>のPCR増幅バンドが検出され、小麦検出用プライマー対を用いたレーンで141bpのPCR増幅バンドが検出された場合、本検査対象検体は小麦陽性と判定する。なお、結果判定の手順、判定例、ならびに注意事項は2.2.3.5.1.記載の落花生を対象とした検査結果の判定に同じ。 (略)</p> <p>3. (略)</p> <p>(別添2) (略)</p>

(別添3)  
判断樹について

1～4 (略)

5 違反発見時の措置

(1) 特定原材料が含まれる食品に係る表示が訂正されるまでの間(判断樹枝⑪においては、製造記録に「表示なし」の根拠の記載がされるまでの間)は、当該食品等の販売を行わないよう指導する。

(2) (略)

6 (略)

(別添4)  
標準品規格

1.卵検知用標準液

1.1.調製法

(略)

\* 抽出用緩衝液 0.6 % SDS及び0.1M 亜硫酸ナトリウムを含有するPBS(pH 7.4)。

(略)

1.2.規格

卵標準品原液規格

電気泳動像

SDS-PAGEによる電気泳動を行うとき、200, 130, 75, 40 kDa付近にそれぞれ明瞭なバンドを認める。

タンパク量

2-D Quant kit(GEヘルスケアバイオサイエンス社製)により、タンパク質を定量するとき、その濃度は4.1～6.2 mg/mLである。

(略)

2.牛乳検知用標準液

2.1.調製法

(略)

\* 抽出用緩衝液 0.6 % SDS及び 0.1M 亜硫酸ナトリウムを含有するPBS(pH 7.4)。

(略)

2.2.規格

(別添3)  
判断樹について

1～4 (略)

5 違反発見時の措置

(1) 特定原材料が含まれる食品に係る表示が訂正されるまでの間(判断樹枝⑫においては、製造記録に「表示なし」の根拠の記載がされるまでの間)は、当該食品等の販売を行わないよう指導する。

(2) (略)

6 (略)

(別添4)  
標準品規格

1.卵検知用標準液

1.1.調製法

(略)

\* 抽出用緩衝液 0.5 % SDS及び2 %メルカプトエタノールを含有するPBS(pH 7.4)。

(略)

1.2.規格

卵標準品原液規格

電気泳動像

SDS-PAGEによる電気泳動を行うとき、200, 130, 90, 50 kDa付近にそれぞれ明瞭なバンドを認める。

タンパク量

2-D Quant kit(GEヘルスケアバイオサイエンス社製)により、タンパク質を定量するとき、その濃度は3.8～5.6 mg/mLである。

(略)

2.牛乳検知用標準液

2.1.調製法

(略)

\* 抽出用緩衝液 0.5 % SDS及び 2 %メルカプトエタノールを含有するPBS(pH 7.4)。

(略)

2.2.規格

## 別紙

### 牛乳標準品原液規格

#### 電気泳動像

SDS-PAGEによる電気泳動を行うとき、40～25 kDaの範囲に3本、16 kDa付近に1本の明瞭なバンドを認める。

#### タンパク量

2-D Quant kit (GEヘルスケアバイオサイエンス社製)により、タンパク質を定量するとき、その濃度は2.1～3.2 mg/mLである。

(略)

### 3.小麦検知用標準液

#### 3.1.調製法

(略)

\* 抽出用緩衝液 0.6 % SDS及び 0.1M 亜硫酸ナトリウムを含有する0.1M Tris-HCl(pH 8.6)

(略)

### 4.そば検知用標準液

#### 4.1.調製法

(略)

\* 抽出用緩衝液 0.6 % SDS、0.1M 亜硫酸ナトリウム及び 0.5 M 塩化ナトリウムを含有する20 mM Tris-HCl(pH 7.5)

(略)

#### 4.2.規格

##### そば標準品原液規格

#### 電気泳動像

SDS-PAGEによる電気泳動を行うとき、22 kDa付近に1本の明瞭なバンドと32 kDa～83 kDaの範囲に4本以上のバンドを認める。

#### タンパク量

2-D Quant kit (GEヘルスケアバイオサイエンス社製)により、タンパク質を定量するとき、その濃度は2.7～4.0 mg/mLである。

(略)

### 5.落花生検知用標準液

#### 5.1.調製法

(略)

\* 抽出用緩衝液 0.6 % SDS、0.1M 亜硫酸ナトリウム及び 0.5 M 塩化ナトリウムを含有する20 mM Tris-HCl(pH7.5)

(略)

### 牛乳標準品原液規格

#### 電気泳動像

SDS-PAGEによる電気泳動を行うとき、40～25 kDaの範囲に3本、20 kDa付近に1本の明瞭なバンドを認める。

#### タンパク量

2-D Quant kit (GEヘルスケアバイオサイエンス社製)により、タンパク質を定量するとき、その濃度は2.1～3.1 mg/mLである。

(略)

### 3.小麦検知用標準液

#### 3.1.調製法

(略)

\* 抽出用緩衝液 0.5 % SDS及び 2 %メルカプトエタノールを含有する0.1M Tris-HCl(pH 8.6)

(略)

### 4.そば検知用標準液

#### 4.1.調製法

(略)

\* 抽出用緩衝液 0.5 % SDS及び 2 %メルカプトエタノールを含有する20 mM Tris-HCl(pH 7.5)

(略)

#### 4.2.規格

##### そば標準品原液規格

#### 電気泳動像

SDS-PAGEによる電気泳動を行うとき、28 kDa付近に1本の明瞭なバンドと32 kDa～83 kDaの範囲に4本以上のバンドを認める。

#### タンパク量

2-D Quant kit (GEヘルスケアバイオサイエンス社製)により、タンパク質を定量するとき、その濃度は2.8～4.2 mg/mLである。

(略)

### 5.落花生検知用標準液

#### 5.1.調製法

(略)

\* 抽出用緩衝液 0.5 % SDS及び 2 %メルカプトエタノールを含有する20 mM Tris-HCl(pH7.5)

(略)

別紙

5.2.規格

落花生標準品原液規格

(略)

タンパク量

2-D Quant kit (GEヘルスケアバイオサイエンス社製)により、タンパク質を定量するとき、その濃度は3.2~4.8 mg/mLである。

(略)

6.甲殻類検知用標準液\*

(略)

6.1.調製法

(略)

\* 抽出用緩衝液 0.6 % SDS、0.1M 亜硫酸ナトリウム、1% Inhibitor Cocktail及び5 mM EDTA (Halt Protease Inhibitor Cocktail Kit (Thermo Fisher Scientific社製))を含有するPBS (pH 7.4)

(略)

5.2.規格

落花生標準品原液規格

(略)

タンパク量

2-D Quant kit (GEヘルスケアバイオサイエンス社製)により、タンパク質を定量するとき、その濃度は3.6~5.3 mg/mLである。

(略)

6.甲殻類検知用標準液\*

(略)

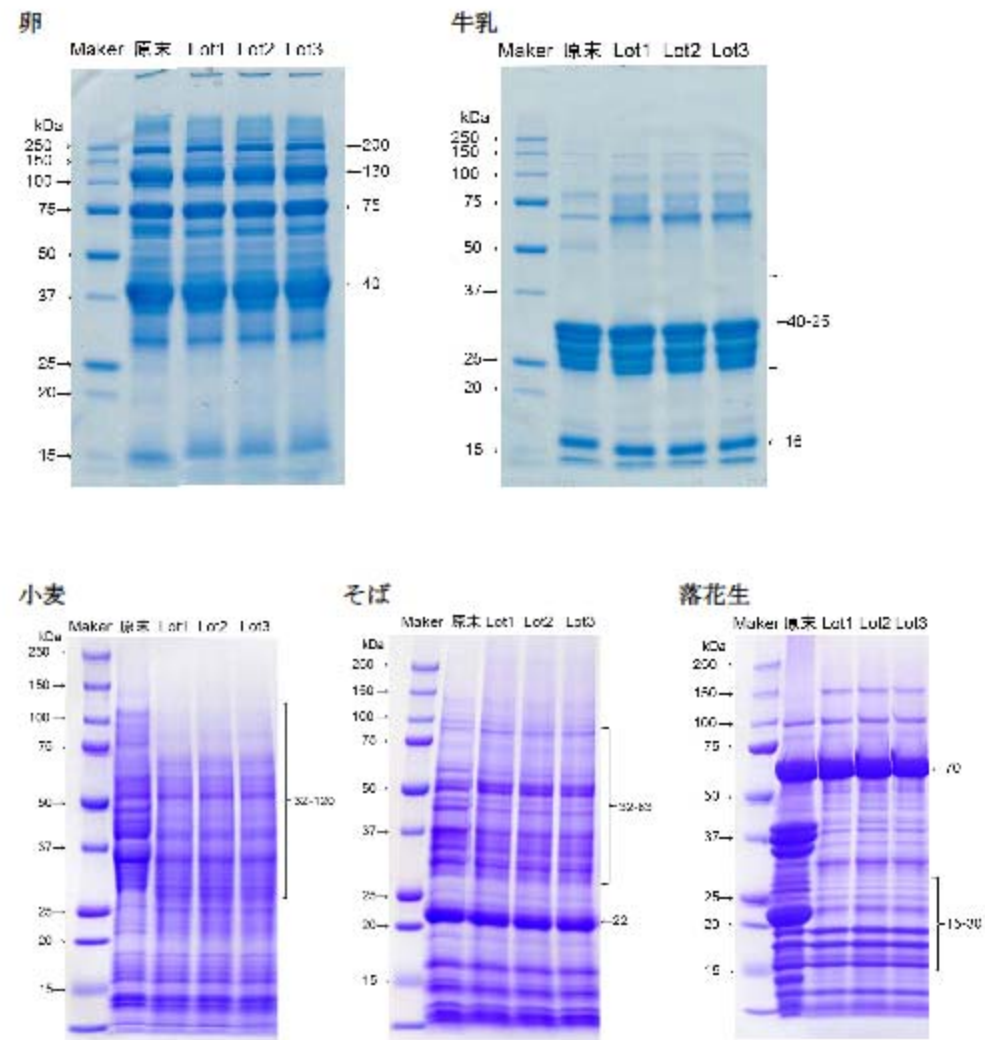
6.1.調製法

(略)

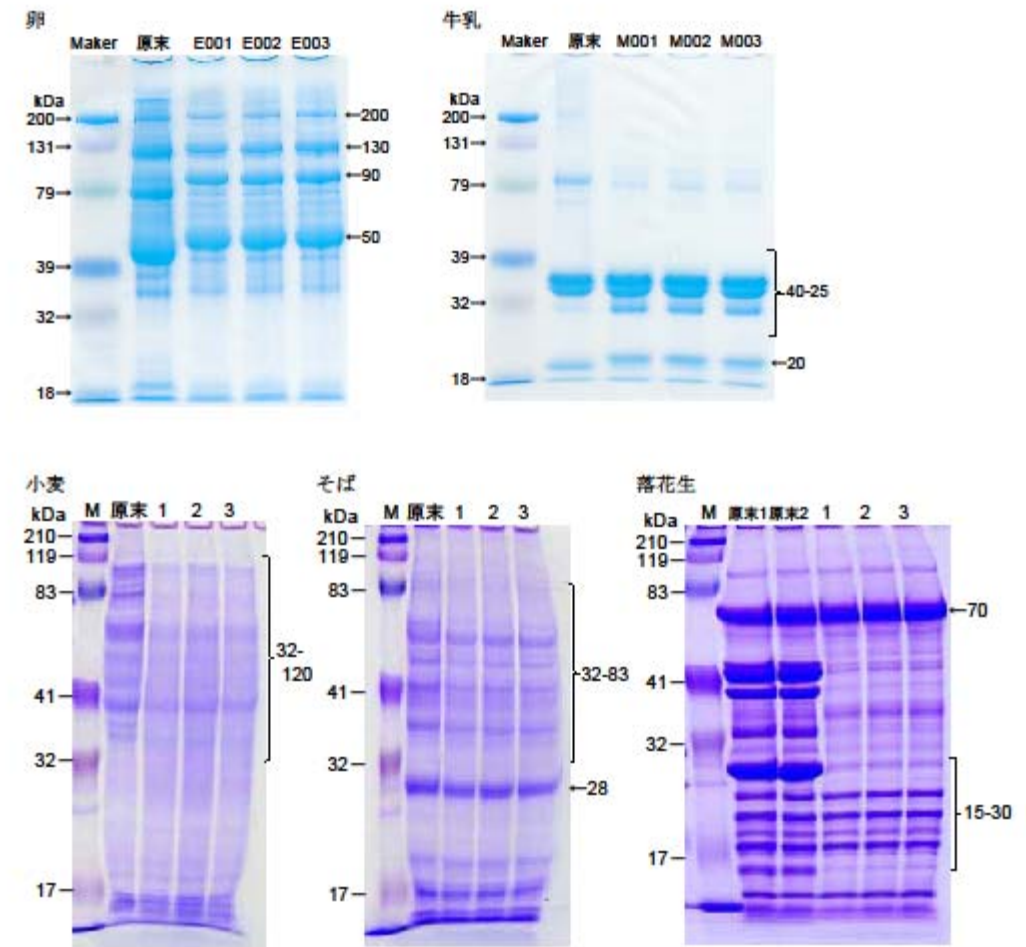
\* 抽出用緩衝液 0.5 % SDS、2 % メルカプトエタノール、1% Inhibitor Cocktail及び5 mM EDTA (Halt Protease Inhibitor Cocktail Kit (Thermo Fisher Scientific社製))を含有するPBS (pH 7.4)

(略)

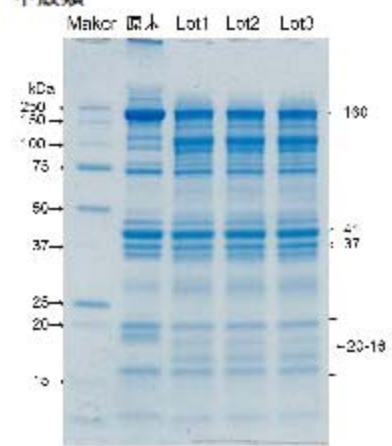
7. 各標準品原液の SDS-PAGE 電気泳動像



7. 各標準品原液の SDS-PAGE 電気泳動像

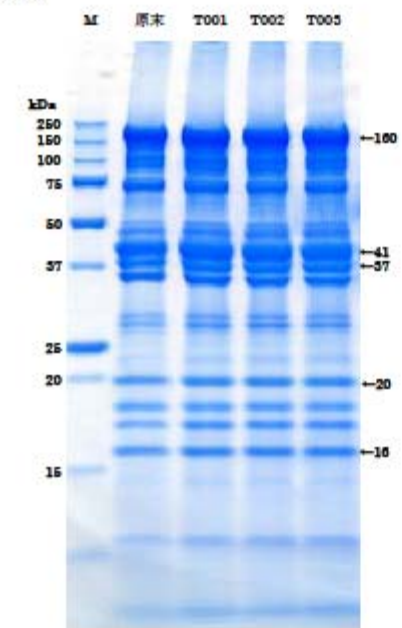


甲殻類



原末：卵・牛乳・小麦・そば・落花生・甲殻類標準粉末  
 Lot1-3：ロット番号

甲殻類



原末：卵・牛乳・小麦・そば・甲殻類標準粉末  
 原末1：落花生脱脂前粉末  
 原末2：落花生脱脂後粉末  
 E001-003, M001-003, 1-3, T001-003：ロット番号

(別添5)

アレルギー物質を含む食品の検査方法を評価するガイドライン

(略)

(別添6)

アレルギー物質を含む食品の検査方法の改良法の評価に関するガイドライン

試験室間バリデーションによりその性能が評価され、別添1に示す基準を満たすことが示されている定量検査法又はこれと同等以上の性能を有すると既に認められている方法(以下「従来法」という。)に改良を加えた定量検査法(以下「改良検査法」という。)については、単一試験室での検討において以下のような性能を評価し、従来法と同等以上の性能を有することを示した場合には、従来法と同様にアレルギー物質を含む食品の検査方法とみなすこととする。

1 検量線

改良検査法の検量線の濃度範囲及び定量性が、従来法と同等であることを示す。

2 従来法との相関

複数の試料について、従来法と改良検査法を用いて定量し、改良検査法が従来法と同等であることを示す。

具体的には、X軸に従来法による定量値、Y軸に改良検査法による定量値をとり、その相関をプロットする。このプロットについて、Y切片をゼロとする近似直線( $Y=aX$ )を算出し、その傾きが0.75-1.25の範囲であること、相関係数が0.9以上であることを示す。

検査方法1種類につき、定量値が数 $\mu\text{g/g}$ から10,000 $\mu\text{g/g}$ まで程度の範囲に偏ることなく分布する試料(ただし、対象濃度範囲における試料確保が困難な場合には10,000 $\mu\text{g/g}$ を超える試料を含んでもよいものとする。)について10種以上の検討を行い、従来法と改良検査法との相関をプロットするものとする。

また、上記の検討に加え、特に数 $\mu\text{g/g}$ から数10 $\mu\text{g/g}$ までの範囲については、偏ることなく分布する10種以上の試料の定量値を改めて別にプロットし(ただし、対象濃度範囲における試料確保が困難な場合には高濃度試料を希釈して測定した際の測定値を使用してよいものとする。)、上記基準を満たす相関が見られることを確認する。

試料としては、

- ・市販加工食品
- ・食品材料に特定原材料タンパク質を添加して調製したモデル加工食品
- ・特定原材料を含有する加工食品と特定原材料を含有しない同様の加工食品を混合し、特定原

(参考)

アレルギー物質を含む食品の検査方法を評価するガイドライン

(略)

材料タンパク質濃度を調製したもの

・特定原材料を含有しない加工食品に特定原材料タンパク質を添加したもの

等を使用する。また、動物性の食品、植物性の食品、加工度の高いもの、酸性を示す食品等、種々の特性を持つ食品を試料として使用することが望ましい。

上記の近似直線の傾きが0.8以下又は1.2以上の場合は、上記検討に加えて、3種類以上の試料(ただし、試料に含まれる特定原材料タンパク質濃度レベルには10  $\mu$ g/g程度を含むものとする。)を用いて回収率を検討し、50%以上150%以下の回収率となることを示すことが望ましい。

試料としては、上記と同様の加工食品で、特定原材料タンパク質濃度が既知のものを使用する。

### 3 精度

1-20  $\mu$ g/g程度の特定原材料タンパク質を含有する試料(試料数2-3程度)を使用し、併行精度(試行回数は5回以上)及び日差変動(3-5日間程度)について検討する。

F検定を行い、従来法と改良検査法との間でこれらの精度及び変動が同等であること、また、同等でない場合には改良検査法の方の精度が高いことを示す。

また、その他、日内変動、分析者間変動、機器間変動等についても検討することが望ましい。

### 4 検出限界、定量限界

これらの値が従来法と同等又はより小さい値であることを示す。

### 5 特異性

偽陽性、偽陰性を示す食品について検討し、従来法との一致点及び相違点を明確に示す。