調査・資料

千葉県における食品中の特定原材料調査
(平成16～26年度)

(平成27年11月18日受理)

原田 利栄* 本郷 猛 橋本 博之

Survey of Allergenic Substances in Foods in Chiba Prefecture
(Fiscal Years 2004–2014)

Rie HARADA*, Takeshi HONGO and Hiroyuki HASHIMOTO

Chiba Prefectural Institute of Public Health: 666–2 Nitona-cho, Chuo-ku, Chiba 260–8715, Japan;

*Corresponding author

We surveyed the presence of allergenic substances such as egg, milk, wheat, buckwheat, peanut, shrimp and crab in foods produced or distributed in Chiba Prefecture during the fiscal years 2004–2014. Six hundred and ninety-five samples that did not display the target allergenic substances were screened by using ELISA. Three percent of the samples (21/695 samples) were found to be positive. Wheat had the highest positivity rate of 9.7% (10/103 samples). Among the samples tested, advisory labeling was displayed in the case of 109 samples. Among these samples, 77.1% (84/109 samples) contained less than 1.0 µg/g of the specified allergen. Out of the 21 samples that tested positive in the screening-test, 16 did not display the advisory labeling.

(Received November 18, 2015)

Key words: 特定原材料 allergenic substance; アレルゲン allergen; エライザ ELISA; 乳 milk; 卵 egg; 小麦 wheat; そば buckwheat; えび shrimp; かに crab; 注意喚起表記 advisory labeling

付録資料: 付録資料(付録表S1)はJ-Stageの日本食品衛生学雑誌(<http://dx.doi.org/10.3358/shokueishi.57.213>)で閲覧できる。

緒言

わが国では、推定1～2%程度の食物アレルギー有症率であると考えられており^{*1}、重篤な場合死亡すること^{*2}もあるなど、食物アレルギーを持つ人にとっては、食品にアレルゲンが含まれているか否かは重大な問題である。食物アレルギーを持つ人の健康危害の発生を防止する観点から、厚生労働省ではアレルゲンを含む食品について平成13年4月に、卵、乳、小麦、そばおよび落花生の5品目を特定原材料とし、食品衛生法により表示を義務づけた^{*3}。

さらに、平成20年6月には、えびおよびかにの2品目が追加された^{*4}。平成27年4月からは、これら7品目について消費者庁から食品表示法における表示が義務づけられている^{*5}。しかしながら、食物アレルギー発症の原因のうち2.5%が表示ミスによるものであり、食品衛生法違反の結果、健康被害が発生していた^{*6}。

千葉県では食物アレルギーによる健康被害の発生を防止するため、平成16年度から、検査対象とする特定原材料が原材料表示に記載されていない食品について検査を実施し、特定原材料表示の妥当性を検証してきた。平成16年度は県内で製造された加工食品を、平成17年度からはあわせて県内で流通している加工食品を対象とした。検査項

* 連絡先 r.yshn3@pref.chiba.lg.jp

千葉県衛生研究所: 〒260–8715 千葉市中央区仁戸名町666–2

*1 厚生労働科学研究費補助金難治性疾患等克服研究事業、「食物アレルギーの診療の手引き2014」検討委員会。食物アレルギー診療の手引き2014。(2014)

*2 調布市教育委員会教育指導室編。調布市立学校児童死亡事故検証報告書。東京、調布市教育委員会、2013, p. 1–42。

*3 食品衛生法施行規則及び乳及び乳製品の成分規格等に関する省令の一部を改正する省令の施行について、食発第79号、平成13年3月15日

*4 食品衛生法施行規則の一部を改正する省令の施行について、食安発第0603001号、平成20年6月3日

*5 食品表示基準について、消食表第139号、平成27年3月30日

*6 平成24年度消費者庁消費者政策調査費、平成24年度食品表示に関する試験検査等の実施「即時型食物アレルギーによる健康被害、及びアレルギー物質を含む食品に関する試験検査」

目は平成16年度から卵, 乳, 小麦, そばおよび落花生の5項目について, さらに, 平成21年度からはこれらにえびおよびかにを加えた7項目について検査を行った。今回, 食品衛生法に基づき検査を行った平成16~26年度の検査結果について取りまとめ, 特定原材料の検出傾向や注意喚起表記の実施状況等について若干の知見を得たので報告する。

実験方法

1. 試料

平成16年度から平成26年度に, 千葉県内の製造施設または販売所から, 検査対象とする特定原材料が原材料表示に記載されていない食品695検体を収去により入手し, 試料とした。

2. 試薬

アレルギー物質を含む食品の検査方法^{*7,*8}(以下, 通知法とする。)に基づき, スクリーニング検査用試薬および確認検査用試薬を調製した。

2.1 スクリーニング検査 (ELISA法)

通知法で示されている, バリデーション実施済みの, 以下に示すELISAキットを用いた。ELISAキットは数年ごとに各製造者により改良が加えられているため, 本調査では, 検査実施時点で入手可能であった, 各社の最新バージョンのELISAキットを使用した。日本ハム(株)製FASTKITエライザ(卵, 牛乳, 小麦, そば, 落花生): 平成16~17年度, FASTKITエライザVer. II(卵, 牛乳, 小麦, そば, 落花生): 平成18~25年度, FASTKITエライザVer. III(小麦): 平成26年度(以下, 3種のELISAキットいずれもNキットとする。), (株)森永生科学研究所製 特定原材料測定キット(卵白アルブミン, カゼイン, 小麦グリアジン, そば, 落花生): 平成16~17年度, モリナガFASPEK特定原材料測定キット(卵白アルブミン, カゼイン, 小麦グリアジン, そば, 落花生): 平成18~25年度, モリナガFASPEKエライザII(卵(卵白アルブミン), 牛乳(カゼイン), 小麦(グリアジン), そば, 落花生): 平成26年度(以下, 3種のELISAキットいずれもMキットとする。), プリマハム(株)製 アレルゲンアイELISA(卵(オボアルブミン), 牛乳(β -ラクトグロブリン), そば, 落花生): 平成24~25年度, アレルゲンアイELISA II(卵(オボアルブミン), 牛乳(β -ラクトグロブリン), そば, 落花生): 平成26年度(以下, 2種のELISAキットいずれもPキットとする。), 日水製薬(株)製FAテストEIA-甲殻類「ニッスイ」: 平成21~25年度, FAテストEIA-甲殻類II「ニッスイ」: 平成26年度(以下, 2種のELISAキットいずれもNSキットとする。), (株)マルハニチロ食品製 甲殻類キット「マルハ」: 平成

21~25年度, 甲殻類キットII「マルハニチロ」: 平成26年度(以下, 2種のELISAキットいずれもMNキットとする。)を用いた。

2.2 確認検査

2.2.1 PCR法

DNAの抽出精製には, 通知法に従い, イオン交換樹脂タイプキット(QIAGEN社製Genomic-tip 20/G), シリカゲル膜タイプキット(QIAGEN社製DNeasy Plant Mini Kit), またはCTAB緩衝液(SIGMA-ALDRICH社製ヘキサデシルトリメチルアンモニウムブロミド, (株)ニッポンジーン製 0.5 M EDTA (pH 8.0), (株)ニッポンジーン製 1 M Tris-HCl (pH 8.0), 和光純薬工業(株)製塩化ナトリウムおよびQIAGEN社製Nuclease-Free Waterを混合して調製した。), フェノール/クロロホルム混合液((株)ニッポンジーン製 フェノール/クロロホルム/イソアミルアルコール(25:24:1))およびクロロホルム/イソアミルアルコール混合液(和光純薬工業(株)製クロロホルムおよび和光純薬工業(株)製イソアミルアルコールを混合して調製した。)を用いた。PCRにはオリエンタル酵母工業(株)製アレルゲンチェッカー(植物共通, 動物共通, 小麦, そば, 落花生), (株)ファスマック製プライマー(えび検出用プライマー, かに検出用プライマー)を用いた。

2.2.2 ウェスタンブロット法

通知法に従い, (株)森永生科学研究所製モリナガFASPEK牛乳ウェスタンブロットキット(カゼイン(以下カゼインキットとする。), β -ラクトグロブリン(以下 β -ラクトグロブリンキットとする。))を用いた。

3. 機器

冷却遠心機: ユニバーサル冷却遠心機5922(クボタ(株)製), プレートウォッシャー: ウェルウォッシュAC(サーモエレクトロン(株)製), プレートリーダー: マルチスキャンJX(サーモエレクトロン(株)製), PCR装置: PCR Express II(サーモエレクトロン(株)製)およびGene Atlas((株)アステック製), 電気泳動装置: Mupid-ex((株)アドバンス製), セイフティーセルミニSTC808(テフコ(株)製), 転写装置: トランスブロットSDセル(バイオラッドラボラトリーズ(株)製)。

4. 方法

通知法に従ってスクリーニング検査および確認検査を実施した。スクリーニング検査はELISA法で行った。卵, 乳, 小麦, そばおよび落花生では目的の検査項目を対象とするNキット, Mキット, Pキットのうちいずれか2種のELISAキットを用いて実施した。えびおよびかにではNSキットおよびMNキットを用いて実施した。なお, NSキットおよびMNキットともに甲殻類に共通するトロポミオシンを測定対象としており, えびとかにを区別することができない。そのため, えびとかにの同定は, 確認検査法であるPCR法でそれぞれ行った。検査に用いた2種のELISAキットのうち, 少なくとも一方で10 μ g/g以上の結

^{*7} アレルギー物質を含む食品の検査方法について, 食安発第1106001号, 平成14年11月6日

^{*8} アレルギー物質を含む食品の検査方法について, 消食表第286号, 平成22年9月10日

Table 1. Analytical results of each food category

Food category	Number of samples	ELISA ^{*1}						Positive samples by ELISA
		Egg	Milk	Wheat	Buck-wheat	Peanut	Shrimp and Crab	
Bento・Sozai	165	18	82	—	—	13	52	0
Sweets	215	84 (1) ^{*2}	—	16 (4)	4	111 (1)	—	6
Fish paste products	55	—	8	22	—	—	25 (4)	4
Meat products	73	10	14	49 (4)	—	—	—	4
Seasoning	17	—	—	13	—	—	4	0
Noodles	138	32	—	—	106 (4)	—	—	4
Others	32	1	4 (1)	3 (2)	14	3	7	3
Total	695	145 (1)	108 (1)	103 (10)	124 (4)	127 (1)	88 (4)	21

^{*1} —: ELISA was not performed.

^{*2} (): Breakdown of positive samples by ELISA

果を示した検体をスクリーニング検査陽性と判定した。なお、1度目の測定を行った結果8～12 µg/gの範囲内にある場合には、再度同一調製試料からの抽出操作を改めて行い、2度目の測定を行った。測定結果の判定は、1度目の値と2度目の値とを平均した値で行った。また、2種のELISAキットの測定値のうち、少なくとも一方が1.0 µg/g以上であったものを検出、2種のELISAキットの測定値がいずれも1.0 µg/g未満であったものを不検出とした。

通知法に示された判断樹に従い、スクリーニング検査陽性であり、かつ製造記録に検査対象の特定原材料の使用記録がないものについて確認検査を実施した。確認検査は、小麦、そば、落花生、えびおよびかにはPCR法を用いて行った。通知法に従い、1検体につき2点独立併行で実施し、イオン交換樹脂タイプキットでDNAを抽出した。2点のうち少なくとも一方で植物DNA検出用プライマー対または動物DNA検出用プライマー対によるPCR増幅バンドが検出され、かつ検出用プライマー対によるPCR増幅バンドが検出されたものを陽性、検出用プライマー対によるPCR増幅バンドが検出されなかったものを陰性とした。イオン交換樹脂タイプキットで2点ともに植物DNA検出用プライマー対または動物DNA検出用プライマー対によるPCR増幅バンドが検出されなかったものは、シリカゲル膜タイプキット、またはCTAB法によりDNAを抽出し、同様にPCR増幅バンドの有無を確認した。イオン交換樹脂タイプキット、シリカゲル膜タイプキット、またはCTAB法の3種の抽出法すべてで、2点ともに植物DNA検出用プライマー対または動物DNA検出用プライマー対によるPCR増幅バンドが検出されなかったものを検知不能とした。乳はウエスタンブロット法で実施し、カゼインキットでは、カゼイン分子量付近に明瞭なバンドのあるものを陽性、β-ラクトグロブリンキットでは、β-ラクトグロブリン分子量付近に明瞭なバンドがあるものを陽性とし、カゼインキットまたはβ-ラクトグロブリンキットの少なくとも一方が陽性であった場合、乳陽性とした。標準液（1 µg/mL）のバンドが検出されない場合、検査不適とし、再度試料の調製から行った。

結果および考察

1. 食品分類別調査結果

食品衛生法では、一部の食品を除き、製造する食品の種別ごとに施設を設けて許可を取得する必要がある。例えば、麺類製造業の許可を取得した施設であれば、同じ麺類であるそばおよびうどんは同一施設で製造できるが、麺類ではない菓子などを製造することはできない。そのため、製造施設で混入する可能性のある特定原材料は、取得した許可の範囲内で製造できる食品の原材料であることが多いと推察される。本調査では、食品衛生法上の営業許可区分ごとに検体を分類し、以下のように集計した。食品衛生法施行令において、調理品など飲食店営業またはそうざい製造業の許可が必要なものを「弁当・そうざい」、菓子やパンなど菓子製造業の許可が必要なものを「菓子」、ハムやソーセージなど食肉製品製造業の許可が必要なものを「食肉製品」、かまぼこやさつま揚げなど魚肉ねり製品製造業の許可が必要なものを「魚肉ねり製品」、うどんやそばなど麺類製造業の許可が必要なものを「麺類」、たれやスパイスなど醬油製造業またはソース類製造業の許可が必要なものの、もしくは製造に許可を要さないが、文部科学省日本食品標準成分表2015年版（七訂）^{*9}により調味料及び香辛料類に該当するものを「調味料」として分類した。これら6種に属さないものを「その他食品」とし、計7種に分類した。検査は、営業許可区分ごとに混入の可能性が高いと推察される項目を中心に、Table 1のとおり実施した。

Table 1に示すとおり、弁当・そうざい165検体は卵、乳、落花生、えびおよびかにはについて、調味料17検体は小麦、えびおよびかにはについて検査を行った。弁当・そうざい、調味料ともにすべて陰性であり、多様な原材料を使用しているにもかかわらず、適切に表示されていることが確認された。菓子では215検体中6検体が陽性であり、卵、小麦、落花生と複数項目の特定原材料で陽性であった。そばが陽性であったものはなかった。菓子製造業の場

^{*9} 文部科学省科学技術・学術審議会資源調査分科会報告。日本食品標準成分表2015年版（七訂）。平成27年12月25日

Table 2. Analytical results by ELISA and confirmation test (over 10 µg/g)

Allergenic substance	Fiscal year	Sample	Food category	Advisory* ¹ labeling	ELISA (µg/g)* ²				Confirmation test
					N kit	M kit	NS kit	MN kit	
Egg	2005	Manju	Sweets	—	>20	3.8	—	—	Not tested* ³
Milk	2005	Chocolate spread	Others	—	>20	>20	—	—	Positive* ⁴
Wheat	2004	Processed rye A	Others	—	<1.0	>20	—	—	Negative* ⁵
	2004	Processed rye B	Others	—	<1.0	19.2	—	—	Negative* ⁵
	2005	Kusa-mochi A	Sweets	—	>20	>20	—	—	Positive
	2005	Kusa-mochi B	Sweets	—	14.0	16.7	—	—	Positive
	2005	Daifuku A	Sweets	—	19.1	16.7	—	—	Positive
	2005	Daifuku B	Sweets	—	14.1	18.5	—	—	Positive
	2010	Sausage A	Meat products	—	>20	>20	—	—	Not tested* ⁶
	2010	Sausage B	Meat products	—	>20	>20	—	—	Not tested* ⁶
	2010	Sausage C	Meat products	—	>20	>20	—	—	Not tested* ⁶
	2010	Sausage D	Meat products	—	>20	>20	—	—	Not tested* ⁶
Buck-wheat	2004	Kishimen	Noodles	—	13.2	18.1	—	—	Positive* ⁷
	2004	Udon	Noodles	—	15.6	3.3	—	—	Positive
	2005	Chinese noodle	Noodles	○	>20	>20	—	—	Positive* ⁸
	2005	Somen	Noodles	—	13.6	9.9	—	—	Positive
Peanut	2004	Japanese sweet	Sweets	—	>20	3.5	—	—	Positive* ⁹
Shrimp and Crab	2014	Satsuma-age A	Fish paste products	○	—	—	6.7	11.5	Positive* ¹⁰
	2014	Satsuma-age B	Fish paste products	○	—	—	14.3	>20	Positive* ¹⁰
	2014	Satsuma-age C	Fish paste products	○	—	—	10.6	>20	Positive* ¹⁰
	2014	Chikuwa	Fish paste products	○	—	—	6.6	13.4	Positive* ¹⁰

*¹ ○: Advisory labeling was displayed.

—: Advisory labeling was not displayed.

*² —: ELISA was not performed.*³ Ingredients contained egg*⁴ Only in casein, β-lactoglobulin was negative. Casein natrium was used in the same factory.*⁵ Possibility of false-positive*⁶ Ingredients contained wheat*⁷ Buckwheat was used in the same production line.*⁸ Buckwheat was used in the factory.*⁹ Peanut was used in the same production line.*¹⁰ Only in shrimp, crab was negative. Fishes used as ingredients were preying on shrimp and crab. Shrimp was used in the same production line.

合、小麦、卵、落花生など使用する原材料は多岐にわたることから、複数の特定原材料で陽性であったと推定される。魚肉ねり製品では55検体中4検体が陽性であった。陽性であった項目はえびおよびかにのみであり、乳、小麦が陽性であったものはなかった。魚肉ねり製品製造業では、原料の魚介類がえびやかにを捕食している場合のほか、同一施設でえびやかにを使った製品を製造する場合があり、コンタミネーションを起こした可能性が推察された。食肉製品では73検体中4検体が陽性であり、陽性であった項目は小麦のみであった。卵、乳が陽性であったものはなかった。食肉製品製造業で製造する製品には、つなぎや調味料に小麦を使用するものがあり、複数の製品を製造する過程で、誤使用やコンタミネーションを起こす可能性が考えられた。麺類では138検体中4検体が陽性であった。陽性であった項目はそばであり、卵が陽性であったものはなかった。麺類製造業では同一施設でそばを製造することがあり、これが混入した可能性がある。その他食品では32検体中3検体が陽性であった。本調査では、食品分類ごとに混入の可能性が高いと推察される項目を中心に検査を行ったが、食品分類により陽性となる特定原材料に特

徴が見られることが判明した。

2. 項目別調査結果

各特定原材料のスクリーニング検査の結果、スクリーニング検査陽性であったものについて、その詳細をTable 2に示した。

2.1 卵

菓子を中心とした145検体を検査し、スクリーニング検査陽性であったのは、菓子（まんじゅう）1検体であった。この陽性であったまんじゅうについて製造記録を確認したところ、製品に表示のない卵白が原材料に使用されていたことが判明したため、判断樹に基づき確認検査は実施しなかった。

2.2 乳

弁当・そうざいを中心に108検体について検査を行い、スクリーニング検査陽性であったのは、その他食品（チョコレートスプレッド）1検体であった。この陽性であったチョコレートスプレッドの製造記録を確認したところ、乳は使用されていなかったことから、確認検査を実施した。その結果カゼインキット陽性、β-ラクトグロブリンキット陰性であり、乳陽性と判定した。なお、当該製品の製造施

設では、乳およびカゼインナトリウムを使用した製品も製造していた。カゼインキットのみ陽性であったことから、製造ライン等におけるカゼインナトリウムの混入が考えられた。

2.3 小麦

スクリーニング検査陽性であったのは、103検体のうち、菓子4検体、食肉製品4検体、その他食品2検体であり、複数の食品分類から検出された。また、検査実施項目中で最も高い陽性率（9.7%）であった。これらのうち菓子4検体（草もち2検体、大福2検体）について製造記録を確認したところ、小麦は使用されていなかったことから、確認検査を実施した。確認検査の結果、すべて小麦陽性であった。食肉製品4検体（ソーセージ4検体）については、製造記録を確認したところ、いずれも製造に使用したスパイスに、固結防止目的の小麦（パン粉）が含有されていたため、判断樹に基づき確認検査は実施しなかった。また、その他食品2検体（ライ麦加工品2検体）は、製造記録を確認したところ、小麦は使用されていなかったことから、確認検査を実施したところ、いずれも小麦陰性であった。これらの検体はライ麦を主成分とし、焙煎工程等を経て製造されていた。ライ麦は小麦の近縁種であるため、ELISAキットで偽陽性を示す可能性があることが「偽陽性又は偽陰性を示す食品リスト」^{*7}にも示されており、スクリーニング検査陽性の結果は、ライ麦による偽陽性と推察された。しかしながら、PCR法で小麦の検出が可能であるのは50 µg/g以上の小麦が含まれる場合であり¹⁾、PCR法の検出感度はELISA法ほど高くない。そのため、PCR法での確認検査ではELISA法で検出された小麦タンパク質が検出できず、偽陰性であった可能性が否定できない。また、製造時の加圧加熱工程によりDNAが断片化され、確認検査が偽陰性であった可能性も否定できなかった。

ELISAキットは、偽陽性、偽陰性が起きうる特性上、通知^{*10}により偽陽性、偽陰性のデータを公表することが求められている。小麦はさまざまな加工食品に使用されており、近縁種も多い。そのため、ELISAキットのロットごとに公表された偽陽性のデータを確認するなど、スクリーニング検査陽性の検査結果を判断するには注意が必要である。

2.4 そば

麺類を中心に124検体について検査を実施し、スクリーニング検査陽性であったのは麺類4検体（きしめん、うどん、中華麺、そうめん）であった。陽性であった麺類4検体について製造記録を確認したところ、そばは使用されていなかったことから、確認検査を実施した。確認検査の結果、すべてそば陽性であった。食品表示基準Q&A^{*11}で

は、食品を生産する際に、原材料としては使用していないにもかかわらず、特定原材料が混入してしまう場合には、原材料表示欄外にその旨を注意喚起することが望ましいとしている。このうち中華麺には、製造施設内でのそばのコンタミネーションについて注意喚起表記が実施されていた。また、きしめんについては、調査の結果、同一ラインでそばを製造していたことが判明した。製造工程での生地残りなどによりコンタミネーションが起こることが知られている²⁾ことから、製造者は製造ラインの十分な清掃等に留意する必要があると考えられた。

2.5 落花生

菓子を中心とした計127検体中、スクリーニング検査陽性であったのは菓子1検体（和菓子）であった。製造記録の確認を試みたが、当該品の製造記録は残されていなかった。そのため、確認検査を実施したところ、落花生陽性であった。なお、当該和菓子の製造施設では、製造時に落花生を含む製品と同一ラインを使用していたことから、製造ラインから混入した可能性が考えられた。

2.6 えびおよびかに

弁当・そうざいおよび魚肉ねり製品を中心とした88検体中、スクリーニング検査陽性であったのは、魚肉ねり製品4検体（さつま揚げ3検体、ちくわ1検体）であった。陽性であった魚肉ねり製品4検体について製造記録を確認したところ、えびおよびかには使用されていなかったことから、確認検査を実施した。確認検査の結果、いずれもえびのみ陽性であった。当該魚肉ねり製品には、いずれも原料の魚がえび・かにを捕食している旨の注意喚起表記が実施されていたことから、原料の魚由来が考えられたが、これらの製品は、一部工程にえびを含む製品と同一のラインを使用しており、製造ラインから混入した可能性も否定できなかった。

3. ELISAキット間の測定値の差異

2種のうち、少なくとも一方のELISAキットで10 µg/g以上の結果を示した検体（Table 2）をスクリーニング検査陽性と判定したが、それぞれのELISAキットの測定値について、10 µg/g以上のものを（+）、10 µg/g未満のものを（-）とすると、スクリーニング検査陽性であった21検体のうち8検体で（+/-）となり、2種のELISAキットの判定が異なった。それぞれのELISAキットは、通知法で定められた標準品規格に沿って作製された標準品に対し、同等の検出感度を示すよう作製されているが、ターゲットとしている抗原や二次抗体等が異なる。Nキットでは複合抗原に対するポリクローナル抗体、Mキットでは単一あるいは精製抗原に対するポリクローナル抗体、Pキットでは単一抗原に対するモノクローナル抗体、NSキットおよびMNキットでは単一抗原に対し、一次反応にモノクローナル抗体、二次反応にポリクローナル抗体を用いている。ELISAキットに用いている抗原や二次抗体等が異なることで、選択性、交差反応性、検出限界、食品への適用性などに差が生じている^{3)~7)}。そのため、食品の

^{*10} 食品表示基準について（別添 アレルゲンを含む食品の検査法）、消費表第139号、平成27年3月30日

^{*11} 食品表示基準Q&Aについて（別添 アレルゲンを含む食品に関する表示）、消費表第140号、平成27年3月30日

Table 3. Number of samples with advisory labeling

Food category	Number of samples	Total samples with advisory labeling	Number of samples with advisory labeling					
			Egg	Milk	Wheat	Buck-wheat	Peanut	Shrimp and Crab
Number of samples	695		145	108	103	124	127	88
Bento・Sozai	165	6 (3.6)* ¹	0	0	0	0	0	6
Sweets	215	16 (7.4)	11	0	0	0	5	0
Fish paste products	55	19 (34.5)	0	0	14	0	0	5
Meat products	73	2 (2.7)	0	0	2	0	0	0
Seasoning	17	0 (0.0)	0	0	0	0	0	0
Noodles	138	63 (45.7)	7	0	0	56	0	0
Others	32	3 (9.4)	0	0	0	1	0	2
Total samples with advisory labeling		109	18 (12.4)	0 (0.0)	16 (15.5)	57 (46.0)	5 (3.9)	13 (14.8)

*1 (): Percentage of advisory labeling to categorized samples (%)

加工状況等により、同一の検査項目を対象とするELISAキット間でも、同一検体に対する測定値が異なると推察された。卵、そば、落花生の検査において、Nキットの結果が10 µg/g以上であり、Mキットの結果が10 µg/g未満であった4検体（まんじゅう、うどん、そうめん、和菓子）は、いずれも食品の製造工程において加熱や乾燥工程を経ている。Nキットが複数の未変性および加熱変性タンパク質抗原を認識する⁸⁾のに対し、Mキットは単一のタンパク質抗原をターゲットにしている⁹⁾ことから、食品の製造過程でタンパク質の加熱変性等が起これ、Mキットでは検出感度の低下が起きた可能性が考えられた。また、卵についてMキットは卵白アルブミンのみをターゲットとし、卵黄には偽陰性を示すが、Nキットは複数の卵タンパク質をターゲットとし、卵白も卵黄も測定可能なことから、検体に含まれる卵黄と卵白の比率の差により測定値に差が生じた可能性も考えられた。また、小麦の検査においてNキットの結果が10 µg/g未満であり、Mキットの結果が10 µg/g以上であった2検体は、いずれもライ麦加工品であり、偽陽性を示すライ麦に対する交差反応性が、Nキットに比べMキットが高い^{10)~12)}ためと考えられた。えびおよびかにの検査においてNSキットの結果が10 µg/g未満であり、MNキットの結果が10 µg/g以上であった2検体（さつま揚げA、ちくわ）は、確認検査の結果、えびのみ検出されている。甲殻類の可溶性タンパク質を用いたモデル加工食品での検討で、MNキットがNSキットに比べ、回収率が高いことが報告¹³⁾されており、今回の結果はこの報告と同様であった。

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^{*12)}では、特定のタンパク質に親和性の高い抗体を用いれば特異性は向上するが、食品の加工により対象としたタンパク質が変性すると検出できなくなる可能性が示されて

いる。一方、多くのタンパク質に結合する抗体を用いれば、対象としている食品以外の食品に由来するタンパク質への結合が多くなり、偽陽性結果を生じる可能性が高くなるとされている。いずれかのELISAキットのみですべてのアレルゲンを検出できるわけではなく、複数のELISAキットを組み合わせることで、偽陰性の可能性を減らし、幅広いアレルゲンを検出できると考えられる。そのため、通知法でも特性の異なる2種のELISAキットを用いて判定することとされている¹⁴⁾。本調査の結果、2種のELISAキットの測定値が異なった検体があることから、2種のELISAキットを用いることは適切と考えられた。これまで、キットの入手しやすさや、操作性等を勘案してキットを選定していたが、検体ごとに最適なELISAキットを選定する方法は、今後の課題である。

4. 注意喚起表記と特定原材料の検出状況

注意喚起表記の実施状況を食品分類ごとにTable 3に示した。

注意喚起表記が実施されているものは、695検体中109検体であった。このうち、最も表記の実施率が高かった項目は、そばの46.0%であり、次いで小麦15.5%、えびおよびかに14.8%、卵12.4%、落花生3.9%であった。乳では注意喚起表記が実施されているものはなかった。

食品分類別では、麺類が45.7%と半数近くの検体に注意喚起表記が実施されており、次いで魚肉ねり製品が34.5%と続き、この2つの食品分類で、注意喚起表記が実施されている検体の75.2% (82/109検体) を占めていた。麺類の製造施設では、そばのほか、小麦製品であるうどんや、卵を使用した中華麺などを同一製造施設内、場合によっては同一ラインで製造していることがある。また、小麦粉やそば粉は麺類製造施設での主な原材料であり、施設内での取扱量も多いことから、混入を完全に排除することが困難と考えられる。そのため、注意喚起表記実施率が高かったものと考えられた。魚肉ねり製品では、原材料である魚がえびやかにを捕食している場合があり、すり身への

*12 食品表示基準について（別添 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）、消食表第139号、平成27年3月30日

Table 4. Number of samples with advisory labeling on quantitative value

Allergenic substance	Number of samples	Not detected (<1 µg/g)				Detected (≥1 µg/g)			
		Total samples	With advisory labeling	Without advisory labeling	Percentage of advisory labeling (%)	Total samples	With advisory labeling	Without advisory labeling	Percentage of advisory labeling (%)
Egg	145	116	16	100	13.8	29	2	27 (1)* ¹	6.9
Milk	108	102	0	102	0.0	6	0	6 (1)	0.0
Wheat	103	85	15	70	17.6	18	1	17 (10)	5.6
Buckwheat	124	96	42	54	43.8	28	15 (1)	13 (3)	53.6
Peanut	127	121	5	116	4.1	6	0	6 (1)	0.0
Shrimp and Crab	88	69	6	63	8.7	19	7 (4)	12	36.8
Total samples	695	589	84	505	14.3	106	25 (5)	81 (16)	23.6

*¹ (): Breakdown of positive samples by ELISA

加工に際し、特に小型の魚では内臓除去が十分になされず消化管内容物が混入する可能性がある¹⁵⁾。そのため、注意喚起表記実施率が高かったと推察された。

一般的には、アレルギー症状を誘発する抗原量に関して、総タンパク質量として数µg/mL濃度レベルでは、アレルギーの誘発には個人差があり、ng/mL濃度レベルではほぼ誘発しないと考えられている^{*11)}。そのため、スクリーニング検査で陰性となる1.0 µg/g以上～10 µg/g未満においても、アレルギーを誘発する可能性が否定できない。このことから、特定原材料が検出された検体については健康被害を防止する観点から注意喚起表記の実施が望ましいと考えられる。しかし、食品中に含まれる特定原材料等の総タンパク質量が、数µg/g含有レベルに満たない場合は表示の必要性はない^{*11)}とされていることから、不検出検体に注意喚起表記を実施することは、食物アレルギー患者の食品選択の幅を過度に狭めている可能性が考えられる。食物アレルギー患者は食品選択の際に注意喚起表記を重要な判断材料としている¹⁶⁾ことから、スクリーニング検査において測定対象の特定原材料が1 µg/g以上検出された検体と、不検出であった検体とに分け、注意喚起表記の実施状況とスクリーニング検査での検出状況について検討した。

スクリーニング検査の結果、特定原材料が検出された検体の結果をTable S1に、検査項目別の注意喚起表記の実施状況についてTable 4に示した。

スクリーニング検査で特定原材料が検出された検体は、全検体の15.3%（106/695検体）であった。このうち、注意喚起表記が実施されているものは23.6%（25/106検体）であり、注意喚起表記が実施されていないものは76.4%（81/106検体）であった。なお、注意喚起表記が実施されていない検体には、原材料として検査対象の特定原材料を使用していないにもかかわらず、陽性であった検体（乳1検体、小麦6検体、そば3検体、落花生1検体）も含まれていたことから、これら11検体を製造した製造施設については、十分なコンタミネーション防止対策や原材料表示への記載などが必要と考えられた。

注意喚起表記が実施されていた109検体中、77.1%

（84/109検体）はスクリーニング検査で不検出であり、表示の必要はないとされている含有レベルの検体に対しても注意喚起表記が実施されていることが判明した。

スクリーニング検査で特定原材料が検出された検体の23.6%でしか注意喚起表記が実施されておらず、注意喚起表記が実施されていた検体の多くはスクリーニング検査不検出であった。以上の結果から、注意喚起表記の実施が、必ずしも特定原材料の混入を示していないと考えられた。スクリーニング検査は、患者の発症の有無を判断するものではなく、表示の妥当性を確認するものである。しかし、患者は注意喚起表記を食品選択の重要な判断材料としている¹⁶⁾ことから、不検出検体への注意喚起表記の実施により食物アレルギー患者の食品選択の幅を過度に狭めることは適切ではない。また、注意喚起表記が実施されていない検体による食物アレルギーの発症も望ましくない。食品製造者が実測値に基づく注意喚起表記を実施するよう努めること、および現在の注意喚起表記の実施状況が効果的で実態に即したものとして機能しているか検証することも今後重要となってくると考えられた。

ま と め

平成16年度から平成26年度にかけて、千葉県内で製造または流通している食品695検体を対象に、特定原材料（卵、乳、小麦、そば、落花生、えびおよびかに）の検査を実施した。その結果21検体がスクリーニング検査陽性となり、小麦の陽性率が最も高かった。食品分類別調査結果より、食品分類ごとに陽性となる特定原材料に特徴が見られることが示唆された。

Table 2に示した、スクリーニング検査陽性であった21検体のうち、えびおよびかにの原材料への混入を含め、製造時に混入したと推察されるものが8検体（チョコレートスプレッド、きしめん、中華麺、和菓子、さつま揚げA,B,C）、原材料表示の確認不足による表示の欠落が5検体（まんじゅう、ソーセージA,B,C,D）、ELISA偽陽性と推察されるものが2検体（ライ麦加工品A,B）であった。これら原因の推察できた15検体を除いた、残りの6検体（草もちA,B、大福A,B、うどん、そうめん）については、

混入経路の特定はできなかったが、製造時のコンタミネーションの可能性等は否定できなかった。

注意喚起表記は695検体中109検体に実施され、最も表記の実施率が高かった項目は、そばの46.0%であった。注意喚起表記が実施されていた109検体中、スクリーニング検査不検出であったものは77.1%であり、注意喚起表記が、必ずしも特定原材料の混入を示していないことが判明した。このような本来必要とされない注意喚起表記により、食物アレルギー患者の食品選択の幅を過度に狭めている可能性が考えられた。注意喚起表記がなく、スクリーニング検査陽性であった16検体については、適切な表示や、十分なコンタミネーション防止対策などが必要と考えられた。

スクリーニング検査では、Table 2に示すように、同一検体に対しELISAキット間で測定値の差異が見られた。このことから食品の加工状況等によっては、同一項目を対象とするELISAキット間でも、同一検体に対する反応性が異なり、その結果測定値が異なる可能性が推察された。より幅広くアレルゲンを検出するため、通知法に従い特性の異なる2種のELISAキットを用いて判定することは妥当と考えられた。

通知^{*10}で示されている検査法は、現時点で最も信頼性の高いと考えられる方法によって構成されているものの、すべての加工食品に対応可能なものではない。検査を実施する過程で明らかとなった検査困難な事例等については、その都度検討し、より正確な結果が得られるよう改良を重ねていくことも重要と考えられた。

文 献

- 1) Yamakawa, H., Akiyama, H., Endo, Y., Miyatake, K., Sakata, K., Sakai, S., Toyoda, M., Urisu, A. Specific detection of wheat residues in processed foods by polymerase chain reaction. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **71**, 2561–2564 (2007).
- 2) Kiyota, K., Fujiwara, Y., Adachi, K., Kameda, M., Akutsu, K., Kajimura, K. Allergy due to probable contamination of bread used for school meals with milk. *Arerugi*, **63**, 787–793 (2014).
- 3) Akiyama, H., Isuzugawa, K., Harikai, N., Watanabe, H., Iijima, K., Yamakawa, H., Mizuguchi, Y., Yoshikawa, R., Yamamoto, M., Sato, H., Watai, M., Arakawa, F., Ogasawara, T., Nishihara, R., Kato, H., Yamauchi, A., Takahata, Y., Morimatsu, F., Mamegoshi, S., Muraoka, S., Honjoh, T., Watanabe, T., Wakui, C., Imamura, T., Toyoda, M., Maitani, T. Inter-laboratory evaluation studies of notified ELISA methods for allergic substances (Egg). *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (Food Hyg. Saf. Sci.)*, **44**, 213–219 (2003).
- 4) Akiyama, H., Isuzugawa, K., Harikai, N., Watanabe, H., Iijima, K., Yamakawa, H., Mizuguchi, Y., Yoshikawa, R., Yamamoto, M., Sato, H., Watai, M., Arakawa, F., Ogasawara, T., Nishihara, R., Kato, H., Yamauchi, A., Takahata, Y., Morimatsu, F., Mamegoshi, S., Muraoka, S., Honjoh, T., Watanabe, T., Sakata, K., Imamura, T., Toyoda, M., Matsuda, R., Maitani, T. Inter-laboratory evaluation studies for development of notified ELISA methods for allergic substances (Milk). *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (Food Hyg. Saf. Sci.)*, **45**, 120–127 (2004).
- 5) Akiyama, H., Isuzugawa, K., Harikai, N., Watanabe, H., Iijima, K., Yamakawa, H., Mizuguchi, Y., Yoshikawa, R., Yamamoto, M., Sato, H., Watai, M., Arakawa, F., Ogasawara, T., Nishihara, R., Kato, H., Yamauchi, A., Takahata, Y., Morimatsu, F., Mamegoshi, S., Muraoka, S., Honjoh, T., Watanabe, T., Sakata, K., Imamura, T., Toyoda, M., Matsuda, R., Maitani, T. Inter-laboratory evaluation studies for development of notified ELISA methods for allergic substances (Wheat). *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (Food Hyg. Saf. Sci.)*, **45**, 128–134 (2004).
- 6) Akiyama, H., Nakamura, K., Harikai, N., Watanabe, H., Iijima, K., Yamakawa, H., Mizuguchi, Y., Yoshikawa, R., Yamamoto, M., Sato, H., Watai, M., Arakawa, F., Ogasawara, T., Nishihara, R., Kato, H., Yamauchi, A., Takahata, Y., Morimatsu, F., Mamegoshi, S., Muraoka, S., Honjoh, T., Watanabe, T., Sakata, K., Imamura, T., Toyoda, M., Matsuda, R., Maitani, T. Inter-laboratory evaluation studies for establishment of notified ELISA methods for allergic substances (Buckwheat). *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (Food Hyg. Saf. Sci.)*, **45**, 313–318 (2004).
- 7) Akiyama, H., Nakamura, K., Harikai, N., Watanabe, H., Iijima, K., Yamakawa, H., Mizuguchi, Y., Yoshikawa, R., Yamamoto, M., Sato, H., Watai, M., Arakawa, F., Ogasawara, T., Nishihara, R., Kato, H., Yamauchi, A., Takahata, Y., Morimatsu, F., Mamegoshi, S., Muraoka, S., Honjoh, T., Watanabe, T., Sakata, K., Imamura, T., Toyoda, M., Matsuda, R., Maitani, T. Inter-laboratory evaluation studies for establishment of notified ELISA methods for allergic substances (Peanuts). *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (Food Hyg. Saf. Sci.)*, **45**, 325–331 (2004).
- 8) Takahata, Y. Detection methods for allergenic substances in foods by enzyme linked immunosorbent assay (1). *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (Food Hyg. Saf. Sci.)*, **43**, J-275–J-277 (2002).
- 9) Mamegoshi, S. Detection methods for allergenic substances in foods by enzyme linked immunosorbent assay (2). *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (Food Hyg. Saf. Sci.)*, **43**, J-277–J-279 (2002).
- 10) Akiyama, H. 食品中のアレルギー物質検出試験法について (特定原材料検出法について). *Nihon Shoni Arerugi Gakkaishi (Jpn. J. Pediatr. Allergy Clin. Immunol.)*, **17**, 23–30 (2003).
- 11) Honjoh, T., Muraoka, S., Mamegoshi, S., Sakai, M. Detection methods for allergic substances in foods by enzyme linked immunosorbent assay. *FFI Janaru (Foods Food Ingredients J. Jpn.)*, **206**, 13–22 (2002).
- 12) Takahata, Y., Morimatsu, F. A food-allergen screening kit, FASTKITTM, as a novel and reliable QA tool. *FFI Janaru (Foods Food Ingredients J. Jpn.)*, **206**, 23–32 (2002).

- 13) Sakai, S., Matsuda, R., Adachi, R., Akiyama, H., Maitani, T., Ohno, Y., Oka, M., Abe, A., Seiki, K., Oda, H., Shiomi, K., Urisu, A. Interlaboratory evaluation of two enzyme-linked immunosorbent assay kits for the determination of crustacean protein in processed foods. *J. AOAC Int.*, **91**, 123–129 (2008).
- 14) Akiyama, H., Toyoda, M. Outline of detection method of allergenic substances. *Shokuhin Eisei Kenkyu*, **52**, 65–73 (2002).
- 15) Sakai, S., Adachi, R., Shibahara, Y., Oka, M., Abe, A., Seiki, K., Oda, H., Yoshioka, H., Shiomi, K., Urisu, A., Akiyama, H., Teshima, R. A survey of crustacean soluble proteins such as “shrimp” and “crab” content in food ingredients. *Nihon Shokuhin Kagaku Gakkaishi (Jpn. J. Food. Chem.)*, **15**, 12–17 (2008).
- 16) Kanagawa, Y., Ebisawa, M., Imamura, T. Results of field survey of the buyers’ behaviour in families of patients affected by food allergies. *Nihon Shoni Arerugi Gakkaishi (Jpn. J. Pediatr. Allergy Clin. Immunol.)*, **19**, 69–77 (2005).