

**調査資料**

### 3 アフラトキシン定性用キットについて

#### Assessment of Qualitative Immunoassay Kits for Screening Test of Aflatoxin

肥飼料安全検査部 飼料鑑定第一課

#### 1 はじめに

配混合飼料の主原料として用いられるとうもろこしは、産地における干ばつ等の気象条件の影響等を受け、カビ毒として知られるアフラトキシンに汚染されることがある。飼料の製造業者等においては、「飼料の有害物質の指導基準」<sup>1)</sup>に定められたアフラトキシン B<sub>1</sub>の基準値を超える飼料を販売することがないように、「飼料等への有害物質混入防止のための対応ガイドライン」<sup>2)</sup>に基づき、アフラトキシン簡易検査用キット等を用いた飼料原料等の品質管理に取り組まれることが想定される。

このような状況の下、独立行政法人農林水産消費安全技術センターでは、国内で入手可能であったアフラトキシン定性用キット（以下、「キット」という。）から汎用性及び迅速性を重視するものを選択し、飼料原料であるとうもろこし及びとうもろこし加工副産物（コーングルテンフィード、コーングルテンミール及びとうもろこしジスチラーズグレインソリュブル）を試料に用い、各キットの適用性等を調査したので、その概要を報告する。

なお、今回の調査目的は、各キットの優劣を評価することではなく、飼料の製造業者等がキットの選択にあたり、その一助となることを意図したものである。

#### 2 方 法

##### 2.1 アフラトキシン定性用キット

市販されているキットを調査し、国内で入手できないもの及び専用機器（リーダー等）を必要とするものを除き、以下の5社7種のキットを選択した。調査対象としたキットの概要は表1のとおりであった。

キットA～Bはメンブラン式ELISA法（競合法）、キットC～Gはイムノクロマト法（競合法）の原理に基づくものであった。

キットA AFLACARD B<sub>1</sub> (R-Biopharm Rhône 社)

キットB AFLACARD Total (R-Biopharm Rhône 社)

キットC AflaCHECK<sup>TM</sup> (Vicam 社)

キットD AgraStrip<sup>TM</sup> Afla 10 (Romer Labs 社)

キットE AgraStrip<sup>TM</sup> Afla 20 (Romer Labs 社)

キットF QuickTox<sup>TM</sup> for Aflatoxin (Envirologix 社)

キットG Reveal for Aflatoxin (Neogen 社)

##### 2.2 アフラトキシンの対象成分

キットAはアフラトキシンB<sub>1</sub>、キットFはアフラトキシンB<sub>1</sub>及びB<sub>2</sub>、キットB、C、D、E及

び G はアフラトキシン B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> 及び G<sub>2</sub> の総量 (以下, 「総アフラトキシン」という.) を検出対象成分としている. 今回は, 飼料を調査対象としたことから, 「飼料の有害物質の指導基準」が規制対象とするアフラトキシン B<sub>1</sub> のみを対象成分とした.

なお, 「飼料の有害物質の指導基準」におけるアフラトキシン B<sub>1</sub> の基準値は, ほ乳期子牛用, 乳用牛用, ほ乳期子豚用, 幼すう用及びブロイラー前期用の配合飼料が 0.01 mg/kg, 牛用 (ほ乳期子牛用及び乳用牛用を除く), 豚用 (ほ乳期子豚用を除く), 鶏用 (幼すう用及びブロイラー前期用) 及びうずら用の配合飼料が 0.02 mg/kg である.

### 2.3 対象試料

すべてのキットが適用対象としているとうもろこしのほか, とうもろこし加工副産物 (コーングルテンフィード, コーングルテンミール及びとうもろこしジスチラーズグレインソリュブル) を対象試料とした. 各試料は, 1 mm の網ふるいを通すまで粉碎した.

アフラトキシンに汚染されていないものをブランク試料, アフラトキシン B<sub>1</sub> に汚染されていた 3 種のとうもろこしを自然汚染とうもろこし A (アフラトキシン B<sub>1</sub> の定量値: 4 µg/kg), B (同: 15 µg/kg) 及び C (同: 33 µg/kg) とした. なお, アフラトキシン B<sub>1</sub> の含量は「飼料分析基準」<sup>3)</sup> の高速液体クロマトグラフ法により確認した.

### 2.4 アフラトキシン標準液

アフラトキシン B<sub>1</sub> 溶液 (マイコトキシン試験用, 2 µg/mL アセトニトリル溶液 (和光純薬工業製)) をアフラトキシン標準液とした.

アフラトキシン標準液はマイクロピペットを用いて適量を抽出用容器に添加し, 窒素ガスを用いて溶媒を除去した後, 抽出操作を実施した.

### 2.5 飼料原料に対する適用性等の確認

各キットの飼料原料に対する適用性等は, 以下 1)~4) に示した方法で確認した. キットの試料溶液の調製方法, 操作手順等は各キットの取扱説明書に準拠した. なお, 2 種類の抽出溶媒が記されたキットは, メタノール系のものを用いた.

キットの個番 (1~5) 毎の結果は, まず判定者 3 名がそれぞれ陽性 (+), 陰性 (-) 又は陽性とも陰性とも判断しにくい (±) と判定した. 次に (±) はキットの取扱説明書に準拠して陰性 (-) とし, 判定者 3 名による判定者別判定結果において優位であった結果をキットの個番別判定結果とした. 更に 5 組の個番別判定結果において優位であった結果をキットの最終判定結果とした. 表 3~5 のキットの信頼性では, 個番別判定結果及び最終判定結果のみを示した. また, 表 6 のキットの目視判定差では, 判定者 3 名による判定者別判定結果とそれから導き出された個番別判定結果及び最終判定結果を示した.

なお, 各キットが検出可能とする最低濃度 (µg/kg) を検出限界, 試料溶液の希釈等によって検出可能となる濃度を閾値濃度 (µg/kg) と表現した.

#### 1) 試料に対する適用性

とうもろこし及びとうもろこし加工副産物のブランク試料を用いて調製した試料溶液 (単回抽出) に対して各キット 5 個を試行し, 各キットの個番別判定結果等から, 試料に対する適用性を確認した.

#### 2) 閾値濃度に対する信頼性

検出限界を 10 µg/kg 以下とするキット A~D は, アフラトキシン B<sub>1</sub> の閾値濃度を 10 µg/kg に想定し, また, 検出限界を 20 µg/kg 以下とするキット A~G は, 閾値濃度を 20 µg/kg に想定

し、試験を実施した。

各キットの閾値濃度（アフラトキシン B<sub>1</sub>として 10 又は 20µg/kg）に対し、その前後の濃度（アフラトキシン B<sub>1</sub>として 8 及び 12 又は 16 及び 24 µg/kg）となるように、ブランク試料にアフラトキシン B<sub>1</sub> 標準液を添加して調製した試料溶液（単回抽出）に対して各キット 5 個を試行し、各キットの閾値濃度前後における個番別判定結果等から、閾値濃度に対する信頼性を確認した。

### 3) 自然汚染とうもろこしに対する信頼性

検出限界を 10 µg/kg 以下とするキット A～D は、自然汚染とうもろこし A 及び B を用いてアフラトキシン B<sub>1</sub> の閾値濃度を 10 µg/kg に想定して調製した試料溶液（反復抽出）に対し、また、検出限界を 20 µg/kg 以下とするキット A～G は、自然汚染とうもろこし B 及び C を用いて閾値濃度 20 µg/kg に想定して調製した試料溶液（反復抽出）に対して各キット 5 個を試行し、各キットの個番別判定結果等から、自然汚染とうもろこしに対する信頼性を確認した。

なお、試料採取量に対する抽出溶媒の液量は、キット A～B が 10 g に対して 20 mL、キット C が閾値濃度 10 µg/kg では 5 g に対して 10 mL、20 µg/kg では 5 g に対して 20 mL としたが、キット D～G は各キットの取扱説明書に準拠した。

### 4) 目視判定差等

2.5 2) 閾値濃度に対する信頼性を確認したとうもろこしの個番別判定結果について、判定者 3 名による判定者別判定結果を詳細に示し、判定者間の目視による判定差、各キット間の判定傾向等を確認した。

## 3 結 果

### 3.1 定性用キットの試料に対する適用性

各ブランク試料に対して各キットを試行し、得られた個番別判定結果を表 2 に示した。

とうもろこしを対象とした場合には、いずれのキットも適用性には問題がなかった。

コーングルテンフィードを対象とした場合には、キット A 及び B はシートがスポット呈色と類似色となる、キット F はテストラインの呈色が不明瞭である等の難点があったが、キット A、B 及び F の適用性には問題がなかった。しかし、キット C 及び G はコントロールラインが呈色しない、キット E (D) は試料溶液がテストラインまでに到達しない等の特異性が認められ、キット C、E (D) 及び G の適用性には問題があった。

コーングルテンミールを対象とした場合には、キット C 及び F はテストラインの呈色が薄い、キット G はコントロールライン及びテストラインの呈色が薄い等の難点があったが、キット A、B、C、F 及び G の適用性には問題がなかった。しかし、キット E (D) は、試料溶液がテストラインまでに到達しない特異性が認められ、適用性には問題があった。

また、とうもろこしジスチラーズグレインソリュブルを対象とした場合には、キット A は試料用スポットの呈色が不明瞭、キット F はテストラインの呈色が薄い等の難点があったが、キット A、B 及び F の適用性には問題はなかった。キット C 及び G はコントロールラインが呈色しない、キット E (D) は試料溶液がテストラインまでに到達しない等の特異性が認められ、キット C、E(D)及び G の適用性には問題があった。

なお、キット D はキット E と製造業者が同一であり、検出限界が異なるのみで適用性は同じと考え、キット E の結果をもって判断した。

### 3.2 定性用キットの閾値濃度に対する信頼性

検出限界を 10 µg/kg 以下とするキット A~D について、アフラトキシン B<sub>1</sub> の閾値濃度を 10 µg/kg に想定し、その前後の濃度において各キットを試行して得られた個番別判定結果を表 3 に示した。また、検出限界を 20 µg/kg 以下とするキット A~G について、閾値濃度を 20 µg/kg に想定し、その前後の濃度において各キットを試行して得られた個番別判定結果を表 4 に示した。

表 3 のとおり、アフラトキシン B<sub>1</sub> の閾値濃度を 10 µg/kg に想定し、とうもろこしを対象とした場合には、試行したキット A~D のうちキット A のみで期待される結果が得られた。しかし、そのほかのキットでは、試料濃度 12 µg/kg において陰性と判定され、期待に反する結果が得られた。

また、表 4 のとおり、閾値濃度を 20 µg/kg に想定し、とうもろこしを対象とした場合には、試行したキット A~G のうちキット A, D 及び E で、コーングルテンミールを対象とした場合には、キット F のみで期待される結果が得られた。しかし、そのほかのキットでは、試料濃度 16 µg/kg において陽性あるいは試料濃度 24 µg/kg において陰性と判定され、期待に反する結果が得られた。

### 3.3 定性用キットの自然汚染とうもろこしに対する信頼性

アフラトキシン B<sub>1</sub> の含量がそれぞれ 4, 15 及び 33 µg/kg の自然汚染とうもろこし A, B 及び C に対して各キットを試行し、得られた個番別判定結果を表 5 に示した。

アフラトキシン B<sub>1</sub> の閾値濃度を 10 µg/kg に想定して調製した試料溶液に対しては、とうもろこし A (4 µg/kg) では、すべてのキットで期待される結果が得られた。また、とうもろこし B (15 µg/kg) では、キット D のみで期待される結果が得られたが、これら以外のキットではすべて陰性と判定され、期待に反する結果が得られた。

また、閾値濃度を 20 µg/kg に想定して調製した試料溶液に対しては、とうもろこし B (15 µg/kg) では、キット F で陽性と判定されたほかは期待される結果が得られた。また、とうもろこし C (33 µg/kg) では、すべてのキットで期待される結果が得られた。

### 3.4 定性用キットの目視判定差等

表 3 及び 4 のとうもろこしの個番別判定結果について、判定者間の目視による判定差等を比較するために、表 6 に判定者 3 名の判定者別判定結果を示した。

判定者 3 名の判定者別判定結果はすべて一致することが多かったが、キット D において試行した試料濃度 12 µg/kg のように、判定者によって全く異なる判定結果となることもあった。また、判定者によって判定に偏りが認められることもあった。

なお、表 6 では、陽性とも陰性とも判断しにくい場合を (±) と表記したが、表 3 及び 4 では、これらをキットの取扱説明書に準拠して陰性 (-) と判定している。

## 4 考 察

調査対象としたキットはすべて、とうもろこしを適用対象としており、とうもろこしの適用性には問題がないと考えられた。しかし、とうもろこし以外のとうもろこし加工副産物を適用対象とした場合には、適用できないキットがあったことから、とうもろこし以外の試料を対象として期待される結果を得るためには、各試料に適したキットを選択し、「トウモロコシ中の総アフラトキシンの試験法について」<sup>4)</sup>に示された総アフラトキシン簡易測定装置の基準等に基づき、真度、選択性、特異性、頑健性、検出限界、定量限界等を改めて確認する必要がある。

各キットの閾値濃度付近での目視判定においては個人差が顕著であり、陽性とも陰性とも判断しにくい場合 (±) には陰性 (-) と判定することが推奨されるが、判定者が (±) の判定を陰性

(一) よりもむしろ陽性 (+) に近似することを意図していた場合には、最終判定結果が覆ることも想定される。したがって、重要な判定の際には、複数者によって判定することも必要と考えられた。

アフラトキシン等のかび毒は試料中に偏在することがあるために、サンプリングは非常に重要である。試料は「飼料等検査実施要領」<sup>5)</sup>、「飼料中の農薬の検査について」<sup>6)</sup>等に基づき、その粒度に応じてそのロットを代表するサンプリング方法で採取、縮分し、更に 1 mm の網ふるいを通すまで粉碎することによって均質性を確保することが重要である。

また、各キットが推奨する試料採取量は、表 1 のとおり、5 g から 50 g とキットによって幅があるが、Aflatoxin Handbook<sup>7)</sup>ではキット D~G の試料採取量を取扱説明書に準拠せず 50g と規定しているように、各キットにおいても「飼料分析基準」の液体クロマトグラフ法等に準拠して試料採取量を 50 g とし、アフラトキシンの検出精度を向上させることも重要と考えられた。

キットを用いるに当たっては、使用期限、判定時間等を厳守すると共に、抗原抗体反応の阻害、検出成分以外の成分との交差反応、物理的な非特異吸着、色素等による判定阻害、試料溶液の粘性等に留意し、試料に応じて、抽出液の pH 調整、クリーンアップ法の改善等も必要と考えられた。

キットの性能の判断基準においては、陰性の試料を陽性と判定すること（偽陽性）が多くても、陽性の試料を確実に陽性と判定し、陰性と判定すること（偽陰性）が少ないものを重視すべきと考えられた。

なお、キット A、D 及び E については、小西ら<sup>8)</sup>が実施した共同試験結果も参考とされたい。

## 文 献

- 1) 農林水産省畜産局長通知：飼料の有害物質の指導基準の制定について、昭和 63 年 10 月 14 日 付け 63 畜 B 第 2050 号
- 2) 農林水産省消費・安全局長通知：飼料等への有害物質混入防止のための対応ガイドラインの制定について、平成 20 年 3 月 10 日 付け 19 消安第 14006 号
- 3) 農林水産省消費・安全局長通知：飼料分析基準の制定について、平成 20 年 4 月 1 日 付け 19 消安第 14729 号
- 4) 医薬食品局食品安全部監視安全課長通知：トウモロコシ中の総アフラトキシンの試験法について、平成 23 年 8 月 16 日 付け 食安監発 0816 第 7 号
- 5) 農林省畜産局長通知：飼料等検査実施要領の制定について、昭和 52 年 5 月 10 日 付け 52 畜 B 第 793 号
- 6) 農林水産省消費・安全局畜産安全管理課長通知：飼料中の農薬の検査について、平成 18 年 5 月 26 日 付け 18 消安第 2322 号
- 7) USDA Grain Inspection, Packers & Stockyard Administration : Aflatoxin Handbook, 06/28/2013
- 8) Yoshiko Sugita-Konishi, Shingo Niimi and Kei-ichi Sugiyama : An inter-laboratory study to validate quantitative and qualitative immunoassay kits for screening test of aflatoxin B1 in corn, Mycotoxins, 57, 75-80 (2007)

表 1 調査対象としたアフラトキシン定性用キットの概要

キット	定性用キットの名称 (製造業者名)	検出原理	検出対象とする成分	検出限界 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	操作方法		判定方法	判定条件		試験不成立
					検出対象試料	抽出溶媒及びその量		陽性	陰性	
A	AFLAGARD B1 (R-Biopharm Rhône 社)	メンブラン式 ELISA 法 (競合法)	アフラトキシン B <sub>1</sub>	2	50 g	メタノール-水(4+1) 100 mL	コントロールスポット 呈色あり 試料用スポット 呈色なし	コントロールスポット 呈色あり 試料用スポット 呈色あり	コントロールスポット 呈色なし	
B	AFLAGARD Total (R-Biopharm Rhône 社)	メンブラン式 ELISA 法 (競合法)	総アフラトキシン (B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , G <sub>1</sub> , G <sub>2</sub> )	2	50 g	メタノール-水(4+1) 100 mL	コントロールスポット 呈色あり 試料用スポット 呈色なし	コントロールスポット 呈色あり 試料用スポット 呈色あり	コントロールスポット 呈色なし	
C	AflaCHECK™ (Vicam社)	イムノクロマト法 (競合法)	総アフラトキシン (B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , G <sub>1</sub> , G <sub>2</sub> )	10	5 g	メタノール-水(7+3) 20 mL	コントロールライン 呈色あり テストライン 呈色なし	コントロールライン 呈色あり テストライン 呈色あり	コントロールライン 呈色なし	
D	AgraStrip™ Afla 10 (Romer Labs社)	イムノクロマト法 (競合法)	総アフラトキシン (B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , G <sub>1</sub> , G <sub>2</sub> )	10	10 g	メタノール-水(7+3) or エタノール-水(1+1) 20 mL	コントロールライン 呈色あり 及びテストラインの 呈色(赤)の有無	コントロールライン 呈色あり テストライン 呈色あり	コントロールライン 呈色なし	
E	AgraStrip™ Afla 20 (Romer Labs社)	イムノクロマト法 (競合法)	総アフラトキシン (B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , G <sub>1</sub> , G <sub>2</sub> )	20	10 g	メタノール-水(7+3) 20 mL	コントロールライン 呈色あり 及びテストラインの 呈色(赤)の有無	コントロールライン 呈色あり テストライン 呈色あり	コントロールライン 呈色なし	
F	QuickTox™ For Aflatoxin (Envirologix社)	イムノクロマト法 (競合法)	アフラトキシン B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub>	20	10-50 g	メタノール-水(7+3) (or エタノール-水(1+1)) 試料採取量の2倍	コントロールライン 呈色あり 及びテストラインの 呈色(赤)の有無	コントロールライン 呈色あり テストライン 呈色あり	コントロールライン 呈色なし	
G	Reveal For Aflatoxin (Neogen社)	イムノクロマト法 (競合法)	総アフラトキシン (B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , G <sub>1</sub> , G <sub>2</sub> )	20	10 g	メタノール-水(7+3) or エタノール-水(1+1) 20 mL	コントロールライン 呈色あり 及びテストラインの 呈色(赤)の有無	コントロールライン 呈色あり テストライン 呈色あり	コントロールライン 呈色なし	

表2 アフラトキシン定性用キットの試料に対する適用性

キット	定性用キットの名称 (製造業者名)	調査対象としたフランク試料の種類																				
		どうもろこし					コーングルテンフィード					コーングルテンミール					どうもろこしジスチラスチアーズグレイインソリュエブル					
		個番別判定	試験成立	偽陽性	適用性	個番別判定	試験成立	偽陽性	適用性	個番別判定	試験成立	偽陽性	適用性	個番別判定	試験成立	偽陽性	適用性	個番別判定	試験成立	偽陽性	適用性	
A	AFLACARD B1 (R-Biopharm Rhône 社)	-----	○	x	○	-----	○	x	△	-----	○	x	○	± ± ± ± ± ±	○	○	○	△	± ± ± ± ± ±	○	○	△
		シートがスポット呈色と類似色となり、判定に難あり																				
B	AFLACARD Total (R-Biopharm Rhône 社)	-----	○	x	○	-----	○	x	△	-----	○	x	○	-----	○	x	○	○	-----	○	x	○
		シートがスポット呈色と類似色となり、判定に難あり																				
C	AflaCHECK™ (Vicam社)	-----	○	x	○	判定不能	x	-	x	-----	○	x	△	判定不能	x	-	△	判定不能	x	-	x	x
		コントロールラインが呈色しない																				
D	AgraStrip™ Afla 10 (Romer Labs社)	-----	○	x	○	※				※				※				※				
		コントロールラインが呈色しない																				
E	AgraStrip™ Afla 20 (Romer Labs社)	-----	○	x	○	判定不能	x	-	x	判定不能	x	-	x	判定不能	x	-	x	判定不能	x	-	x	x
		試験溶液がテストラインにまで到達しない																				
F	QuickTox™ for Aflatoxin (Envirologix社)	-----	○	x	○	± ± ± ± ± ±	○	○	△	-----	○	x	△	-----	○	x	△	-----	○	x	△	△
		テストラインの呈色が不明瞭																				
G	Reveal for Aflatoxin (Neogen社)	-----	○	x	○	判定不能	x	-	x	判定不能	x	-	△	判定不能	x	-	△	判定不能	x	-	x	x
		コントロールラインが呈色しない																				

判定結果  
 ±: 試験用スポット(あるいはテストライン)の呈色が不明瞭  
 ○: 問題なし  
 x: 問題あり  
 △: 問題なし  
 x: 偽陽性あり  
 x: 偽陽性なし  
 ○: 問題なし  
 x: 問題あり  
 △: ライン等の判定に難があるが、適用性に問題がない  
 ※: Eの結果から適用性に問題があったことから実施していない

一: コントロール及び試験用スポット(あるいはコントロール及びテストライン)が共に呈色

±: 試験用スポット(あるいはテストライン)の呈色が不明瞭

○: 問題なし

○: 偽陽性あり

○: 偽陽性なし

○: 問題なし

○: 問題あり

△: ライン等の判定に難があるが、適用性に問題がない

※: Eの結果から適用性に問題があったことから実施していない

表 3 アフラトキシン定性用キットの標準液添加による閾値濃度に対する信頼性  
(アフラトキシン B1 の閾値濃度を 10 µg/kg に想定した場合)

キット	定性用キットの名称 (製造業者名)	調査対象とした試料の種類														
		とうもろこし			コーングルテンフィード			コーングルテンミール			とうもろこしジスチラース グレイソリュブル					
		想定した閾値濃度(µg/kg)			10			10			10			10		
		適用した試料濃度(µg/kg)	8	10	12	8	10	12	8	10	12	8	10	12		
期待される結果		-	- or +	+	-	- or +	+	-	- or +	+	-	- or +	+			
A	AFLACARD B1 (R-Biopharm Rhône 社)	個番別判定	-----	+++++	+++++	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----			
		最終判定	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
B	AFLACARD Total (R-Biopharm Rhône 社)	個番別判定	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----			
		最終判定	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
C	AflaCHECK™ (Vicam社)	個番別判定	-----	-----	-----	※			-----	-----	-----	※				
		最終判定	-	-	-	※			-	-	-	※				
D	AgraStrip™ Afla 10 (Romer Labs社)	個番別判定	-----	-----	-----	※			※			※				
		最終判定	-	-	-	※			※			※				


+ : 陽性      - : 陰性  
 ※ : 適用性に問題があったことから実施していない  
 : 期待される結果と異なる結果が得られた場合

表 4 アフラトキシン定性用キットの標準液添加による閾値濃度に対する信頼性  
(アフラトキシン B1 の閾値濃度を 20 µg/kg に想定した場合)

キット	定性用キットの名称 (製造業者名)	調査対象とした試料														
		とうもろこし			コーングルテンフィード			コーングルテンミール			とうもろこしジスチラース グレイソリュブル					
		想定した閾値濃度(µg/kg)			20			20			20			20		
		適用した試料濃度(µg/kg)	16	20	24	16	20	24	16	20	24	16	20	24		
期待される結果		-	- or +	+	-	- or +	+	-	- or +	+	-	- or +	+			
A	AFLACARD B1 (R-Biopharm Rhône 社)	個番別判定	-----	+++++	+++++	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----			
		最終判定	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-			
B	AFLACARD Total (R-Biopharm Rhône 社)	個番別判定	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----			
		最終判定	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
C	AflaCHECK™ (Vicam社)	個番別判定	-----	-----	-----	※			-----	-----	-----	※				
		最終判定	-	-	-	※			-	-	-	※				
D	AgraStrip™ Afla 10 (Romer Labs社)	個番別判定	-----	+++++	+++++	※			※			※				
		最終判定	-	+	+	※			※			※				
E	AgraStrip™ Afla 20 (Romer Labs社)	個番別判定	-----	+++++	+++++	※			※			※				
		最終判定	-	+	+	※			※			※				
F	QuickTox™ for Aflatoxin (Envirologix社)	個番別判定	+++++	+++++	+++++	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----			
		最終判定	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-		
G	Reveal for Aflatoxin (Neogen社)	個番別判定	-----	-----	-----	※			-----	-----	-----	※				
		最終判定	-	-	-	※			-	-	-	※				


+ : 陽性      - : 陰性  
 ※ : 適用性に問題があったことから実施していない  
 : 期待される結果と異なる結果が得られた場合



表5 アフラトキシン定性用キットの自然汚染とうもろこしに対する信頼性

キット	定性用キットの名称 (製造業者名)		調査対象とした自然汚染とうもろこし				
			とうもろこしA (AFB <sub>1</sub> : 4 μg/kg )	とうもろこしB (AFB <sub>1</sub> : 15 μg/kg )	とうもろこしB (AFB <sub>1</sub> : 15 μg/kg )	とうもろこしC (AFB <sub>1</sub> : 33 μg/kg )	
			想定した閾値濃度(μg/kg)	10	10	20	20
			適用した試料濃度(μg/kg)	4	15	15	33
		期待される結果	-	+	-	+	
A	AFLACARD B1 (R-Biopharm Rhône 社)	個番別判定	-----	- + + - -	-----	+ + + + -	
		最終判定	-	-	-	+	
B	AFLACARD Total (R-Biopharm Rhône 社)	個番別判定	-----	-----	-----	+ - - + +	
		最終判定	-	-	-	+	
C	AflaCHECK™ (Vicam社)	個番別判定	-----	-----	-----	+ + + + +	
		最終判定	-	-	-	+	
D	AgraStrip™ Afla 10 (Romer Labs社)	個番別判定	-----	+ + + + +	-----	+ + + + +	
		最終判定	-	+	-	+	
E	AgraStrip™ Afla 20 (Romer Labs社)	個番別判定			-----	+ + + + +	
		最終判定			-	+	
F	QuickTox™ for Aflatoxin (Envirologix社)	個番別判定			+ + + + +	+ + + + +	
		最終判定			+	+	
G	Reveal for Aflatoxin (Neogen社)	個番別判定			-----	+ + + + +	
		最終判定			-	+	

+ : 陽性

- : 陰性



: 期待される結果と異なる結果が得られた場合

表6 アフラトキシン定性用キットの目視判定差

キット	定性用キットの名称 (製造業者名)	想定した閾値濃度(µg/kg)	調査対象とした試料 : とうもろこし																																			
			10					10					10					20					20															
			8					10					12					16					20					24										
			期待される結果					- or +					+					-					- or +					+										
キット内個番		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5							
A	AFLACARD B1 (R-Biopharm Rhône 社)	判定者別判定	判定者 A	-	-	-	-	-	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	±	±	±	±	±	+	+	+	+	+	±	±	±	±	±
			判定者 B	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	+	+	+	+	+	±	±	±	±	±
			判定者 C	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		個番別判定 <sup>1)</sup>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
最終判定 <sup>2)</sup>		-					+					+					-					+																
B	AFLACARD Total (R-Biopharm Rhône 社)	判定者別判定	判定者 A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			判定者 B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	±	±	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			判定者 C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		個番別判定 <sup>1)</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
最終判定 <sup>2)</sup>		-					-					-					-					-																
C	AflaCHECK™ (Vicam社)	判定者別判定	判定者 A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	±	±	±	±	-	-	-	-	-	±	±	±	±	±
			判定者 B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			判定者 C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		個番別判定 <sup>1)</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
最終判定 <sup>2)</sup>		-					-					-					-					-																
D	AgraStrip™ Afla 10 (Romer Labs社)	判定者別判定	判定者 A	-	-	-	-	-	±	±	±	±	±	+	+	+	+	+	±	±	±	±	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
			判定者 B	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
			判定者 C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		個番別判定 <sup>1)</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
最終判定 <sup>2)</sup>		-					-					-					+					+																
E	AgraStrip™ Afla 20 (Romer Labs社)	判定者別判定	判定者 A	※															±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
			判定者 B	※															±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
			判定者 C	※															-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		個番別判定 <sup>1)</sup>	※															-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
最終判定 <sup>2)</sup>		-					-					-					+					+																
F	QuickTox™ for Aflatoxin (Envirologix社)	判定者別判定	判定者 A	※															+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
			判定者 B	※															+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
			判定者 C	※															+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		個番別判定 <sup>1)</sup>	※															+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
最終判定 <sup>2)</sup>		-					-					-					+					+																
G	Reveal for Aflatoxin (Neogen社)	判定者別判定	判定者 A	※															±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
			判定者 B	※															±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
			判定者 C	※															-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
		個番別判定 <sup>1)</sup>	※															-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	
最終判定 <sup>2)</sup>		-					-					-					-					-																

+ : 陽性      - : 陰性      ± : 陽性とも陰性とも判断しにくい  
 ※ : 適用性に問題があったことから実施していない  
 ■ : 期待される結果と異なる結果が得られた場合  
 1) 判定者A,B,Cの判定結果(±は-と判定)から判断し、優位であった結果  
 2) 個番別判定結果から判断し、優位であった結果