

食物アレルギー検出キット
アレルゲンアイ®イムノクロマト
 Allergeneye® Immunochromato

牛乳_(ホエー) **【加 熱】**
取扱説明書

本キットは、牛乳タンパク質であるホエーの主成分β-ラクトグロブリンに対するモノクローナル抗体を用いた金コロイド免疫クロマト法により、食品やふき取り溶液などに含まれる牛乳タンパク質を検出する検査キットです。
 本キットは、原材料から加熱された加工食品まで幅広い食品に適用できます。また、設備や環境のふき取り溶液などの検査も可能です。

検査にあたっては本説明書をよく読み、操作方法に従い正しく検査してください。

本キットは食品中の牛乳タンパク質を検出するための研究用試薬であり、食物アレルギー発症の有無を診断する臨床検査薬などではありません。アレルギー発症には個人差があり、アレルゲンの摂取量とアレルギー症状の相関は不明です。

キットの内容

包装単位:20 テスト、5 テスト/キット

	名 称	20 テスト	5 テスト
A	テストストリップ(透明プラ袋個包装、板状乾燥剤入り)	20 本	5 本
B	検出液(5 本入り/1 袋包装、凍結乾燥品)	20 本(4 袋)	5 本(1 袋)
C*	検体抽出液		
	抽出液①(10 倍濃縮)	50 mL×1 本	12.5 mL×1 本
	抽出液②(10 倍濃縮)	50 mL×1 本	12.5 mL×1 本
D	取扱説明書	1 枚	1 枚
E	検出液チューブスタンド(10 穴、紙製)	2 個	なし

* C 検体抽出液は「アレルゲンアイ® イムノクロマト加熱用」の他の項目と共通です。

目的・性能

食品またはふき取り溶液に含まれる牛乳タンパク質(ホエー)の検出

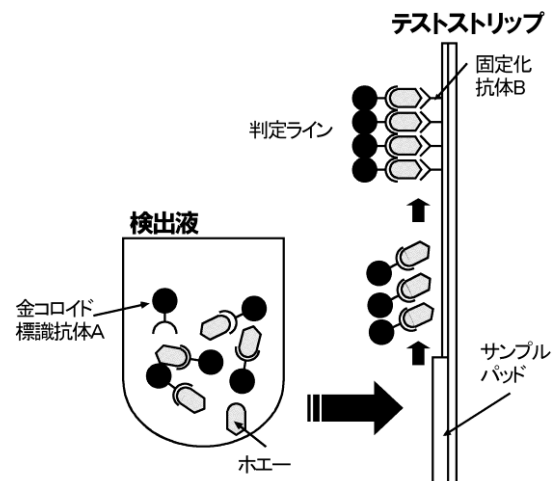
検査試料中の牛乳タンパク質を 100 ng/mL 以上(被検食品またはふき取り溶液当たりに換算した場合約 2 ppm 以上)の濃度で検出可能

貯法・使用期限

1. 貯 法 高温多湿を避けて室温(1~30℃)で保存してください
2. 使用期限 外箱及び透明プラ袋等に表示

原 理

1. 検出液に検査試料を添加します。
2. 検査試料中に牛乳タンパク質が含まれる場合、金コロイド標識抗体 A と複合体を形成します。
3. この溶液に、テストストリップを含浸すると、この複合体がテストストリップ上を移動し、固定化抗体 B に捕捉され、赤紫色の判定ラインが確認されます。
4. 牛乳タンパク質が含まれない場合は、複合体が形成されないため、判定ラインは確認されません。



準備するもの(例)

こちらに示したものは一例です。同等の性能を有するものや、代用可能なものもございますので、ご不明な点はお問い合わせください。

A: 食品検査の場合	B: ふき取り検査の場合
・メスシリンダー ・ポリプロピレン製遠沈管(50 mL) ・ウォーターバス(約 100℃加熱用) ・精製水 ・ろ紙(ADVANTEC No.5A など) ・タイマー ・チューブ立て ・試験管ミキサー	・メスシリンダー ・ポリプロピレン製遠沈管(50 mL) ・ウォーターバス(約 100℃加熱用) ・精製水 ・ろ紙(ADVANTEC No.5A など) ・タイマー ・チューブ立て ・試験管ミキサー
・マイクロピペッター(100 μL が分取可能なもの) ・フードプロセッサーまたはミキサー ・計量器	・マイクロピペッター(1 mL および 100 μL が分取可能なもの) ・市販のふき取り器具*(リン酸緩衝生理食塩水 10 mL 入りのもの)

* ふき取り器具には、微生物検査用として市販されているものが使用できます。ただしペプトンなどの培地成分やアレルゲンなどのタンパク質が含まれないものを利用してください。

操作方法1:検査試料の調製

1. 検体抽出液の準備

(1) 使用前に必ずキットを室温に戻してください。

※ テストストリップや検出液は、袋から取り出さず、そのまま室温に戻してください。

(2) 「C:検体抽出液」を調製します。

※ 精製水 8 容に対して、「抽出液①(10 倍濃縮)」、「抽出液②(10 倍濃縮)」各 1 容を加え、十分に攪拌してください。

例) 20 mL 調製の場合:

精製水 16 mL に「抽出液①(10 倍濃縮)」2 mL、「抽出液②(10 倍濃縮)」2 mL を加える。

※ 泡立ちますので、なるべく泡立たせないように希釈してください。

※ 「抽出液①」は保管中に沈殿を生じることがあります。その場合は、ぬるめのお湯で容器ごと温めて沈殿を完全に溶かしてください。お湯で温めた後は、室温程度に冷やしてから検査に使用してください。

2. 検査試料の調製

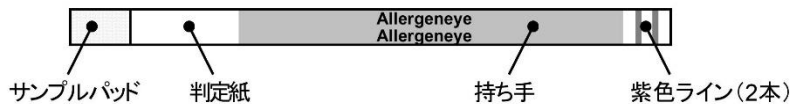
A: 食品検査の場合	B: ふき取り検査の場合
① 検査サンプルを均一になるようにフードプロセッサーやミキサーなどで粉碎・混合します。	① 検査する箇所をふき取り器具でふき取ります。 ※ ふき取る範囲は検証の上、決定してください(例 10 cm × 10 cm の範囲)。 ※ ふき取った綿球部分を容器に戻してよく振り混ぜ、ふき取ったサンプルを溶かし込みます。
② 均一にした検査サンプルを 50 mL の遠沈管に 1 g 量り取り、検体抽出液を 19 mL 加えます。	② ①の溶液を 50 mL の遠沈管に 1 mL 量り取り、検体抽出液を 19 mL 加えます。
③ 十分に攪拌した後、沸騰水浴中で 10 分間加熱します*。 ※ 加熱中に5分に1回程度攪拌してください。 ※ 20分程度加熱しても検査結果に影響はありません。 加熱後、流水などで室温程度に冷却します。 ※ 酸性およびアルカリ性の食品などは、抽出後の pH が中性付近(pH6.0~8.0)ではなくなることがあります。その場合は pH を確認し、必要に応じて中性付近(pH6.0~8.0)になるように調整します。	③ 十分に攪拌した後、沸騰水浴中で 10 分間加熱します*。 ※ 加熱中に5分に1回程度攪拌してください。 ※ 20分程度加熱しても検査結果に影響はありません。 加熱後、流水などで室温程度に冷却します。
④ ③の溶液をろ紙でろ過します。 ※ ろ液の回収が困難な場合は、遠心分離(例えば3,000 × g、20 分間)を行い、上清を分取したのち、ろ紙でろ過してください。 ※ 遠心分離の際にはサンプルの温度が室温(20℃~25℃)となるようにしてください。	④ ③の溶液に食品成分が多く含まれる場合は、ろ紙でろ過します。
⑤ ④で得られたろ液を検査試料とし、そのまま検査に使用します。	⑤ ③の溶液または④で得られたろ液を検査試料とし、そのまま検査に使用します。

*激しく攪拌すると、溶液がふきこぼれることがありますので注意してください。まず耐熱手袋をして軽くふたを開け、空気を抜きます。その後ふたを閉めて試験管ミキサーで攪拌すると、ふきこぼれがありません。

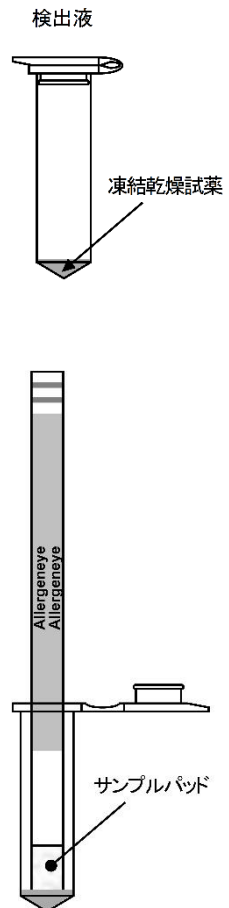
操作方法 2:テストストリップによる検査

テストストリップや検出液を冷蔵保存している場合には、袋のまま室温に戻してから使用してください。

- (1) チャック付きアルミ袋から検出液を取り出します。
 - ※ 紫色の透明なチューブです。
 - ※ 検出液は使用直前に袋から取り出し、取り出した後は、きちんとチャックを閉めてください。
 - ※ 検出液が入っているアルミ袋は、ヒートシールすることが可能です。長期間保管する場合は、ヒートシーラーでしっかりと閉めて保管することを推奨します。
 - ※ きちんとチャックが閉まっていないと、検出液が吸湿して固化します。吸湿した検出液では正しく検査ができない場合がありますので使用せずに、正常な検出液のみを使用してください。
- (2) 検出液のふたを開け、検査試料を 100 μ L 添加し、十分に振りまぜ、凍結乾燥試薬を均一に溶解して、付属の検出液チューブスタンドに立てます。
 - ※ 凍結乾燥試薬がチューブのふたや壁面に付着している場合は、落としてからサンプルを添加してください。
 - ※ 凍結乾燥試薬の形状がチューブによって異なっている場合がありますが、試薬量は均一ですのでそのまま使用してください。
- (3) テストストリップを透明プラ袋から取り出します。
 - ※ テストストリップは、使用直前に袋から取り出してください。
 - ※ 判定紙部分は、フィルムで保護されておりませんので、テストストリップは 2 本の紫色のラインのある持ち手を持ち、判定紙部分には触れないように注意してください。

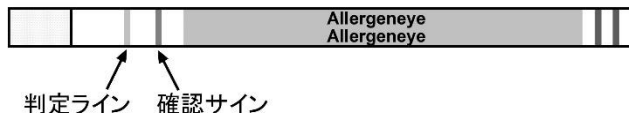


- (4) テストストリップを(2)のチューブに入れ、そのまま静置します。
 - ※ サンプルパッドの先端がきちんとチューブの底につくように入れてください。
- (5) 20 分後に、テストストリップを取り出し判定します。
 - ※ ピンク色の確認サインが発色していることを確かめてから判定してください。
 - ※ テストストリップをチューブに挿入してから 20 分後に判定し、それ以降は判定を行わないでください。



判 定

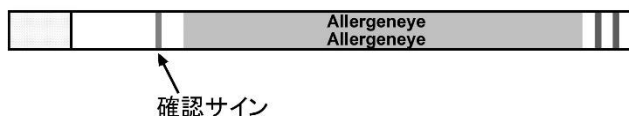
- 陽 性:赤紫色の判定ラインとピンク色の確認サインの 2 本のラインが確認されます。



検査試料中に 100 ng/mL 以上の牛乳タンパク質が含まれています。被検食品またはふき取り溶液当りに換算した場合約 2 ppm 以上に相当します。

※ ラインの着色の濃さにかかわらず、赤紫色の判定ラインが確認できた場合は、陽性と判定してください。

- 陰 性:ピンク色の確認サインのみが発色し、判定ラインは確認されません。



検査試料中には、牛乳タンパク質(ホエイ)が含まれていないか、含まれている場合でも牛乳タンパク質が 100 ng/mL 未満であると推測されます。

- 再検査:確認サインが発色しません。

確認サインが発色しなかった場合は、正しく検査が行われなかった可能性がありますので、判定を保留し、新しいテストストリップ及び検出液で再度検査を行ってください。

判定上の注意

- (1) 正しい判定結果を得るために、テストストリップをチューブに挿入してから 20 分後に判定し、それ以降は判定を行わないでください。検査試料中に検出感度未満の低濃度の牛乳タンパク質が含まれている場合や非特異的な反応などで、時間が経過すると判定ラインが着色してくる場合があります。
- (2) 粘性の高い食品や着色程度の高い食品では正確に判定できない場合がありますので、適宜希釈して検査を行ってください。
- (3) 右図の様にラインの全体が着色せず、一部のみが着色した場合は、判定を保留し、新しいテストストリップ及び検出液で再度検査を行ってください。



食品への反応性

- (1) 各種食品に対する反応性は、下記ホームページ※に公開している「食品反応性リスト」および「偽陰性リスト」をご参照ください。
- (2) 山羊乳、羊乳に対して交差反応を示します。

※ プリマハム株式会社ホームページ 基礎研究所 アレルゲンアイ®イムノクロマト 加熱用
https://www.primaham.co.jp/company/rd/food_safety_goods/kanetu.html

結果の保管

- (1) 結果の保管が必要な場合は、テストストリップをコピー用紙などにテープで貼り付けて保管することが可能です。その場合は、テストストリップ先端のサンプルパッド部分をハサミで切り取る、またはティッシュペーパーで押さえて検査試料を吸い取ることを推奨します。
- (2) テストストリップの判定紙より上の部分(持ち手部)は、検査日やサンプル名、判定結果などを記入できます。
- (3) 時間の経過とともに、判定ラインが出現したり、判定ラインの濃さが変化することがあります。

使用上または取扱い上の注意

1. 一般的な注意

- (1) 本キットは食品またはふき取り溶液中に含まれる牛乳タンパク質(ホエイ)を検出するための定性試薬ですので、他の用途には使用しないでください。
- (2) 使用期限を過ぎた試薬は使用しないでください。(使用期限は外箱及び透明プラ袋等に表示されています。)
- (3) 本キットは直射日光や熱源を避け、室温で検査してください。
- (4) 廃棄方法は自治体の条例に従ってください。テストストリップ(PET など)及び乾燥剤(パルプ)は、焼却処分が可能です。
※ 素材:透明プラ袋(PE)、アルミ袋(PE など)、検出液チューブ(PP)、検体抽出液容器(本体 PE、ふた PP)、ラベル(PET)、外箱・中仕切り(紙)、取扱説明書(紙)

2. 操作上の注意

- (1) 実験器具からのコンタミネーションによりアレルゲン混入の判定が困難にならないよう、使用する実験器具は中性洗剤で洗浄後、アルカリ洗剤などで一晩漬け置きし、十分に水道水で洗った後、精製水ですすいでください。
- (2) 沸騰水で加熱しますので、取扱いには耐熱手袋などを使用し、やけどには十分注意して作業してください。
- (3) 加熱に使用する機器の空焚きに十分注意してください。
- (4) 微量でも手に付いたアレルゲンが混入するおそれがあるため、検査にあたっては、手をきれいに洗ってください。
- (5) テストストリップの入った透明プラ袋は室温に戻したあと使用直前に開封してください。また、袋が破損している場合には、誤った結果となるおそれがありますので、そのテストストリップは使用しないでください。
- (6) 検体の吸収が悪くなる場合がありますので、サンプルパッドには手を触れないでください。
- (7) 使用前に判定紙がぬれてしまうと正しく判定できません。その際は、使用を中止し、新しいテストストリップを用いて検査してください。
- (8) サンプル中の牛乳タンパク質濃度がきわめて高濃度の場合、逆に判定ラインが出なくなる現象(プロゾーン現象)が起こる場合があります。プロゾーン現象が疑われる場合には、検査試料を検体抽出液で10倍希釈して再検査を行ってください。

3. 危険防止上の注意事項

- (1) 本キットの試薬類は、皮膚や粘膜、衣類等に付けないでください。
- (2) 「抽出液②(10倍濃縮)」には、保存剤としてアジ化ナトリウム 0.1%未満が含まれています。廃棄の際には、大量の水と一緒に流してください。
- (3) 誤って試薬が目や口に入った場合には、直ちに水道水で十分に洗い流す等の応急処置を行い医師の手当てを受けてください。

4. その他

- (1) 本キットによる判定の結果は、製造記録や他の測定方法なども合わせ総合的に評価してください。
- (2) 本キットの検査結果を使用した結果として発生した損害および損失については、責任を負いません。

【発売元】プリマハム株式会社 基礎研究所 【製造販売元】株式会社つくば食品評価センター

【お問い合わせ先】株式会社つくば食品評価センター 検査試薬事業部 TEL:029-841-8950 E-mail:Allergeneye@primaham.co.jp