

食物アレルギー検査 よくある問合せ Q & A

- Q 1 特定原材料のスクリーニング検査(ELISA法)はなぜ2種類のキットで行うのですか？
- Q 2 ELISA法の定量範囲はいくつですか？
- Q 3 ウェスタンブロット法及びPCR法の検出限界はいくつですか？
- Q 4 製品に含まれる特定原材料等由来タンパク質の含有量を定量することは出来ますか？
- Q 5 卵白アルブミン、 β -ラクトグロブリン、カゼイン、グリアジンを指標とした検査キットを使用すれば、各成分の定量が出来るのですか？
- Q 6 スクリーニング検査(ELISA法)を実施せず、確認検査(ウェスタンブロット法・PCR法)から実施しても良いですか？
- Q 7 免疫クロマト法は、スクリーニング検査(ELISA法)の代わりになりますか？
- Q 8 特定原材料及び特定原材料に準ずるもののすべての項目について検査する必要がありますか？
- Q 9 えび・かにを分けて検査することは出来ますか？
- Q 10 検体は項目ごとに用意する必要がありますか？
- Q 11 検査の実施が難しい検体には、どんなものがありますか？
- Q 12 アレルギーが起きないことを調べられますか？
アレルギーを低下させた●●の検査は出来ますか？
- Q 13 「検出しないこと」、「含まれていないこと」、「使われていないこと」の確認は出来ますか？
- Q 14 製造ラインや器具の清浄度を確認することは出来ますか？
- Q 15 食品以外の検体(化粧品や石鹸等)についても検査を行うことは可能ですか？
- Q 16 揚げ油についての検査は可能ですか？

Q1 特定原材料のスクリーニング検査 (ELISA 法) はなぜ 2 種類のキットで行うのですか？

A アレルギー物質を含む食品の検査方法について(平成 22 年 9 月 10 日消食表第 286 号)において、検査特性の異なる 2 種類の検査キットを使用することが定められています。

<解説>

ELISA法は、抗体への結合量から検体に含まれる特定原材料等由来タンパク質の量を調べる方法です。従って、この抗体の選択によって選択性、交差反応性、検出下限、食品への適用性が変化します。

特定のタンパク質に親和性の高い抗体を使用すれば特異性は向上しますが、対象としたタンパク質が製品加工の工程で変性すると検知できなくなる可能性があります。さらに、原材料を精製して使用する場合、その精製物に対象となるタンパク質が残存していなければ検知することできませんので、偽陰性が増加する可能性もあります。

一方、多くのタンパク質に結合する抗体を用いた場合、前述の問題を回避することが出来ますが、対象としているタンパク質と似た構造を持つ別の原材料に由来するタンパク質への結合が多くなり、偽陽性を生じる確率が高まるという弱点があります。

以上のことから、スクリーニング検査は、検査特性の異なる 2 種の検査キットを組み合わせることで、各々の特性を相互補完する仕組みとなっています。

このようにスクリーニング検査では検査特性の異なる検査キットを使用するため、各検査キットから得られた検査結果は必ずしも一致いたしません。その場合でも「どちらが正しい」ということはなく、いずれか一方の検査結果が $10 \mu\text{g/g}$ を超えていれば陽性結果と判断されます。

[目次に戻る](#)

Q2 ELISA法の定量範囲はいくつですか？

A 弊財団ではELISA法の定量範囲を1.0～20.0 $\mu\text{g/g}$ としています。^{*1}

<解説>

検査に使用するELISAキットの仕様では0.31～20 $\mu\text{g/g}$ が定量範囲とされていますが、測定結果の信頼性が保証可能な範囲であることと、実用性及び社会的な要求水準を考慮して、弊財団では定量範囲の下限を「1.0 $\mu\text{g/g}$ 」としています。

この定量範囲のほぼ中央にあたる10 $\mu\text{g/g}$ が陰性・陽性の境目となります。

なお、高度な加工又は精製によりタンパク質が変性、分解、除去された検体では、偽陰性反応^{*2}を示す場合があります。

*1 「特定原材料に準ずるもの カシューナッツ」の検査における定量範囲は2.0～60.0 ppmです。

*2 検査対象物質が使用されているにもかかわらず、検査では検出されない現象です。
“醤油を検体とした小麦の検査”や“落花生油を対象とした落花生の検査”等では、偽陰性反応が見られることがあります。

[目次に戻る](#)

Q3 ウェスタンブロット法及びPCR法の検出限界はいくつですか？

A 対象タンパク質が10 $\mu\text{g/g}$ 程度含まれていれば検出されると考えられます。

<解説>

ウェスタンブロット法及びPCR法の検出限界は明確には提示されておられません。しかし、アレルギー物質を含む食品の検査方法について(平成22年9月10日消食表第286号)において、ELISA法で対象タンパク質が10 $\mu\text{g/g}$ を超えて検出された場合に確認検査としてウェスタンブロット法又はPCR法を行うとされていることから、ウェスタンブロット法及びPCR法では検体中に対象タンパク質が10 $\mu\text{g/g}$ 程度含まれていれば検出されると考えられます。

ELISA法の検査結果が5 $\mu\text{g/g}$ 程度であった検体においても、ウェスタンブロット法及びPCR法で検出された事例もありますが、検体の構成成分や加工レベルにより抽出効率が異なるため、すべての検体に当てはまるとは限りません。

なお、ELISA法の定量下限は1.0 $\mu\text{g/g}$ です。そのため、ELISA法でわずかに数値が得られた検体にウェスタンブロット法やPCR法を適用した場合、実際に検査対象となる原材料が含まれていたとしても各検査法の感度の違いから検出されない結果となることがあります。

また、高度な加工又は精製によりタンパク質及びDNAが変性、分解、除去された検体では、偽陰性反応*を示す場合があります。

* 検査対象物質が使用されているにもかかわらず、検査では検出されない現象です。

“醤油を検体とした小麦の検査”や“落花生油を対象とした落花生の検査”等では、偽陰性反応が見られることがあります。

[目次に戻る](#)

Q4 製品に含まれる特定原材料等由来タンパク質の含有量を定量することは出来ますか？

A 一定の制限はありますが可能です。

<解説>

スクリーニング検査の定量上限は $20.0 \mu\text{g/g}$ ですが、必要な希釈を行うことで理論上100%までの定量を行うことが可能です。しかし、実際の測定においては、検査法に起因する制限がありますので注意が必要です。

弊財団で実施している「食物アレルギー検査」は、製品におけるアレルギー表示が適性に行われているか否かをアレルギー物質を含む食品の検査方法について(平成22年9月10日消食表第286号)というルールに基づいて確認する検査です。得られた測定結果は、そのルールの中において「製品に含まれる特定原材料等由来のタンパク質量」として扱われます。

しかし、アレルギー物質を含む食品の検査方法には、「加工による特定原材料成分の変化・分解や食品からの特定原材料成分の抽出効率の変動により、本検査法による特定原材料総タンパク質含有量の測定結果は実際の含有量と必ずしも正確に一致しない。」という技術的な限界があります。

そのため、「食物アレルギー検査」を行いましても、製品に含まれる特定原材料等由来タンパク質量の“真値”を得ることは困難です。

このように、検査結果をどのような位置から見るかによって、得られた値の“正しさ”の解釈は変化いたしますので、検査法の性質が検査目的と合致するか否かを確認いただく必要があります。

[目次に戻る](#)

Q5 卵白アルブミン、 β -ラクトグロブリン、カゼイン、グリアジンを指標とした検査キットを使用すれば、各成分を定量することができますか？

A 各成分を指標としたキットを使用しても、その成分を定量することは出来ません。

<解説>

卵白アルブミン、 β -ラクトグロブリン、カゼイン、グリアジンを対象とする抗体を用いた検査キットは、各々の成分に対して特異的に反応します。しかし、その検査結果は各成分の濃度ではなく、各成分に対応する卵、乳、小麦の総タンパク質量として示されます。

よって、卵白アルブミンを指標としたキットでは卵総タンパク質、 β -ラクトグロブリン及びカゼインを指標としたキットでは乳総タンパク質、グリアジンを指標としたタンパク質では小麦総タンパク質の濃度が得られます。

[目次に戻る](#)

Q6 スクリーニング検査(ELISA法)を実施せず、確認検査(ウエスタンブロット法・PCR法)から実施しても良いですか？

A スクリーニング検査からの実施をお勧めします。ただし、偽陽性反応を示す原材料を使用している製品の場合は、確認検査からの実施も検討されます。

<解説>

アレルギー物質を含む食品の検査方法について(平成22年9月10日消食表第286号)では、スクリーニング検査(ELISA法)を最初に実施し、得られた検査結果が $10\mu\text{g/g}$ を超え、かつ、偽陽性反応*が疑われる場合に、確認検査(ウエスタンブロット法・PCR法)を実施するとされています。

また、スクリーニング検査(ELISA法)は定量試験であり $1.0\sim 20.0\mu\text{g/g}$ の範囲で定量が可能です。一方、確認検査(ウエスタンブロット法・PCR法)は定性試験であり濃度を知ることは出来ません。

以上のことから、食物アレルギー検査を行う場合には、スクリーニング検査から実施されることをお勧めいたします。ただし、小麦に対する大麦のように、検査対象の原材料に対して偽陽性反応を示す原材料を使用している製品については、スクリーニング検査を行う意義が乏しいため確認検査からの実施も検討されます。

* ELISA法の特長として、対象タンパク質と似た構造を持つ他のタンパク質(小麦に対する大麦など)が検査キットに反応してしまう場合があります、これを偽陽性反応と呼びます。

[目次に戻る](#)

Q7 イムノクロマト法は、スクリーニング検査(ELISA法)の代わりになりますか？

A 代わりとすることは出来ません。

<解説>

イムノクロマト法は製造現場などで実施される簡易検査という位置づけであり、アレルギー物質を含む食品の検査方法について(平成22年9月10日消食表第286号)におけるアレルギー表示の妥当性確認のための検査法としては採用されていません。また、イムノクロマト法は定性試験であるため、検査対象に含まれる対象タンパク質の濃度を知ることは出来ません。

製品や製造ラインに対象タンパク質が存在するか否かを確認することが目的であれば、イムノクロマト法は簡便ですぐれた検査法と言えますが、アレルギー表示の妥当性確認が目的の場合には、ELISA法によるスクリーニング検査(ELISA法)から実施されることをお勧めいたします。

[目次に戻る](#)

Q8 特定原材料及び特定原材料に準ずるもののすべての項目について検査する必要がある
ありますか？

A 必ずしもすべての項目について検査を行う必要はありません。

<解説>

書面調査等により「使用している原材料」及び「使用していない原材料」が特定できるのであれば、必ずしも「食物アレルギー検査」を実施する必要はありません。

「書面による調査結果を検証・補強したい。」、「保管及び製造過程でのコンタミネーションについて検証したい。」といった目的の場合には、可能性のある原材料についてのみ検査を行うといった手法が考えられます。

[目次に戻る](#)

Q9 えび・かにを分けて検査することは出来ますか？

A 定性試験となりますが、PCR法を用いれば可能です。

<解説>

ELISA法では甲殻類としてまとめて検査を行うため、えび・かにを区別することは出来ませんが、PCR法であれば、えび・かにを区別して検査することが可能です。しかし、PCR法はDNAを指標とした定性試験であるため検査対象に含まれるえび又はかに由来タンパク質の濃度を知ることは出来ません。

なお、“えび検出用プライマーに反応するかに”や“かに検出用プライマーに反応するえび”も知られていますので事前にお問い合わせください。

[目次に戻る](#)

Q10 検体は項目ごとに用意する必要がありますか？

A 項目ごとに検体をご用意いただく必要はありません。

<解説>

複数項目を同時にご依頼いただく場合には、検体を共有することが可能なため、項目ごとに検体をご用意いただく必要はありません。また、スクリーニング検査の実施後に確認検査をご依頼いただく場合においても、追加検体をご用意いただく必要はありません。

ご提供いただく検体は、1食分毎の単位にて50g以上をご用意ください。1食分が少量の場合は、合わせて50g以上となるようにご用意ください。原材料やリンス水についての検査では50g以上をご用意ください。

拭き取りキットを対象としたご依頼の場合には、キットに充てんされている溶媒の液量として約10mLが採取出来るようにご用意ください。

[目次に戻る](#)

Q11 検査の実施が難しい検体には、どんなものがありますか？

A タンパク質を吸着する性質を持つもの、強い粘性を有するもの、高濃度の塩分を含有するものなどが挙げられます。

<解説>

ELISA法やウエスタンブロット法では、ポリフェノールのようにタンパク質を吸着する性質を持つ物質は、検査に対する妨害物質として作用し、検査結果に影響を与えることがあります。また、増粘剤や海藻に含まれるフコイダンのように粘性を有する物質は、抗原抗体反応を介さずに非特異的な吸着を示すことがあります。

また、PCR法では、ポリフェノールのようにタンパク質を吸着する性質を持つ物質、増粘剤や海藻に含まれるフコイダンのように粘性を有する物質は、検査に対する妨害物質として作用して検査結果に影響を与えることがあります。また、高濃度の塩分も妨害物質として作用することがあります。

なお、検査結果に影響を与える物質は多種存在しますが、すべての物質が明らかにされているわけではありませんので、ご依頼をいただいた段階で影響を予測することは出来ません。

[目次に戻る](#)

Q12 アレルギーが起きないことを調べられますか？ アレルギーを低下させた●●の検査は出来ますか？

A “アレルギーが起きないこと”や“アレルギーが低下していること”を調べることは出来ません。

<解説>

弊財団で実施している食物アレルギー検査は、製品におけるアレルギー表示の妥当性を評価するための検査であり、抗原性の強さや摂取した人がアレルギーを起こすか否かを判断することは出来ません。

また、検査結果は検査対象である原材料の総タンパク質量として算出されるため、特定のタンパク質の増減を個別に調べることは出来ません。

“卵アレルギー患者が食べられる卵”に関する検査についてお問い合わせをいただくことがありますが、前述の内容に加え、同卵の販売に対して消費者庁から注意喚起が行われたという事例*もありますため、弊財団における検査受託はお断りさせていただいています。

*「アレルギー患者が食べられる」と称する卵の販売サイトに関する注意喚起について
(平成22年10月29日 消費者庁)

[目次に戻る](#)

Q13 「検出しないこと」、「含まれていないこと」、「使われていないこと」の確認は出来ますか？

A 「検出しないこと」は確認できますが、「含まれていないこと」、「使われていないこと」の確認は出来ません。

<解説>

～検出しないこと～

各検査法の感度において「検出しないこと」の確認は可能です。

ただし、定量下限又は検出限界未満の原材料については検出することはできませんので、「検出されない＝含まれていない(ゼロである)」とはならない点に注意が必要です。

～含まれていないこと～

本検査では「含まれていないこと」を確認することは出来ません。

一定濃度以上が含まれていないこと(＝検出しないこと)を確認することはできますが、定量下限又は検出限界未満の原材料については検出することはできませんので、「含まれていないこと(ゼロである)」を証明することは出来ません。

～使われていないこと～

本検査では「使われていないこと」を確認することは出来ません。

使用量がわずかであったり、特定の成分が変性・分解している場合等には検出することが出来ません。また、「使ったかどうか」は行為の問題でもありますので、それを分析で証明することは困難です。

[目次に戻る](#)

Q14 製造ラインや器具の清浄度を確認することは出来ますか？

A リンス水や拭き取りキットを用いた検査が可能です。

<解説>

製造ラインや器具の清浄度の確認を目的としてご依頼いただくことの多い“リンス水を対象とした検査”及び“拭き取りキットを用いた検査”についてご紹介します。

なお、アレルギー物質を含む食品の検査方法について(平成22年9月10日消食表第286号)は、製品におけるアレルギー表示の妥当性を確認するための検査法であり、製造ラインや器具の清浄度を確認する手法については言及がありません。また、製造ラインや器具は企業ごとに異なるため「このようにすれば良い。」という正解はありませんので、清浄度の確認方法については自社の取り組みの中で決定していただく必要があります。

～リンス水を対象とした検査～

ラインの洗浄に水の使用が可能な場合は、リンス水を検体としてご依頼をいただくことが多いです。最終のリンス水をライン洗浄後に製造する次製品に見立て、次製品への特定原材料の移行を検証します。

～拭き取りキットを用いた検査～

ラインの洗浄に水を使用することが出来ない場合や、洗浄しづらい箇所を重点的に確認されたいといった場合に拭き取りキットを用いた検査のご依頼をいただきます。

拭き取りには、微生物用の拭き取りキットを流用する事例が多いのですが、拭き取りキットに充てんされている溶媒によっては食物アレルギー検査に影響をおよぼす可能性があるため、溶媒としてリン酸緩衝液(PBS)又は生理食塩液が使用されている製品の使用をお勧めします。

なお、拭き取りキットを用いた検査の場合、実際の検査は、スワブに付着したタンパク質を分散させた溶媒(分散液)について実施することになります。そのため、検査結果は「分散液中の対象タンパク質濃度」としてご報告します。

また、スワブに付着したタンパク質を溶媒に分散させる手法にご指定のある場合には、ご依頼時にお申し出ください。ご指定のない場合には、超音波処理を30秒間行うことで、スワブに付着したタンパク質が溶媒中に分散したと見なし、この分散液について検査をいたします。

[目次に戻る](#)

Q15 食品以外の検体(化粧品や石鹸等)についても検査を行うことは可能ですか？

A 検査は出来ませんが、その意義は乏しいかもしれません。

<解説>

弊財団で実施している食物アレルギー検査は、製品に施されたアレルギー表示の妥当性を評価するための検査であり、抗原性の強さや摂取した人がアレルギーを起こすか否かを判断することは出来ません。

また、検査結果は検査対象である原材料の総タンパク質量として算出されるため、特定のタンパク質の増減を個別に調べることは出来ません。

よって、研究開発において製品から対象となるタンパク質が検出されないことを確認しておきたいといった目的であれば一定の範囲において有用な検査と成り得ます。しかし、アレルギー誘発性の確認が必要な場合において、この検査を実施する意義は乏しいと考えられます。

[目次に戻る](#)

Q16 揚げ油についての検査は可能ですか？

A 検査は出来ませんが、その意義は乏しいかもしれません。

<解説>

揚げ油はその時々で状況が異なると推察されますので、検査した揚げ油からは対象タンパク質が検出されなくても、他日の揚げ油からは検出される可能性が否定できません。

また、直前に調理した原材料の一部が揚げ油中に残存し、その後に調理した製品に付着する可能性もあるため、あるタイミングの揚げ油について検査を行っても、全工程の安全性を担保することは難しいと考えられます。

[目次に戻る](#)