

## 食肉処理における牛枝肉の神経組織汚染状況について

東総食肉衛生検査所 立石暁久 飛川美晴 宮内朋美 明石誠  
宮沢俊一 小林貴子 来栖恵美子 石沢孝子

### A. 目的

千葉県で平成13(2001)年に我が国初の牛海綿状脳症(Bovine Spongiform Encephalopathy)が確認されて以来、食肉の安全に対する様々な対策が農林水産省、厚生労働省、各都道府県を中心に行政面、衛生面などでなされてきた。その中で、平成14(2002)年1月31日の厚生労働省からの通知により、各と畜場に脊髄吸引装置が導入され脊髄の除去作業が行われるようになった。しかし、現状では不完全な脊髄除去や、脊髄残渣物質の枝肉への付着、また脊髄吸引装置を使用せずに病畜処理を行うと畜場の問題もある。こうした状況下で我々は病畜の牛にターゲットを絞り、「洗浄による枝肉の神経組織汚染の防止効果」、「ピッシング等の処理と血中における神経組織汚染との関連性」について検証を行った

### B. 方法

#### (1) 使用検出キット

「BSE 対策用 RIDA スクリーン 脳・脊髄組織含有テスト(生肉ノ拭きとり)」

(製造: -Biopharm 社、輸入元:チツソ株式会社、販売元:アツマックス株式会社)を用いて調査を行った。

(このキットは中枢神経組織内にもみ存在すると言われているグリア線維細胞酸性タンパク質<以下、GFAP>をサンドイッチ ELISA 法にて検出)

#### (2) 調査対象

今回の調査では病畜と室にて脊髄吸引機を使用している、県内Aと畜場の11頭、脊髄吸引機を用いていない県内Bと畜場の9頭の計20頭の病畜の牛を検体として、と殺前の生前血、と殺時の放血ならびに心残血を採取し、また枝肉の頸部表面と頸椎切断面(共に第三頸椎付近)について背割り直後と洗浄後の2回、拭き取り検査を行った。

#### (3) 実施方法

##### 検体採取

生前血(頸静脈から採取)、と殺時放血、ならびに心残血(と殺後、右心房室から採取)約5mlをヘパリン加試験管に採取し、保冷剤等で一時的に保存して検査所に搬入後-20以下で保存した。

拭き取り検体については滅菌綿棒で対象部位の約100平方センチ

(10cm四方)について背割り直後と洗浄直後に拭き取りを行い、綿棒は小試験管に入れて検査所に搬入後、-20以下で凍結保存した。

##### 試料調整

採取した血液各50μlにキット付属の希釈バッファーを950μl加え20倍希釈溶液とした。拭き取り検体については上記の希釈バッファーを1mlずつ小試験管に加えてマイクロチューブミキサーにて混和した。

##### ELISA

上記のキットにより実施した。実施手順は以下の通り

- ・ 標準液4種類、調整試料を50μlずつ各ウェルに滴下した。
- ・ 各ウェルに酵素複合体液を50μlずつ滴下して、振とうした。その際、最初の滴下と

最後の滴下の間は1分以内とする。

- ・ 室温で10分間インキュベーション後、付属の粉末を蒸留水で溶かして作った洗浄バッファーで5回洗浄した。
- ・ 各ウェルに基質発色液を100 µl ずつ滴下して振とう後、暗箱内にて室温で5分間インキュベーションした。
- ・ 各ウェルに反応停止液を100 µl ずつ滴下して、吸光度を測定した。

## C. 結果

### データ処理について

今回の調査では合計で20頭(県内Aと畜場:11頭、県内Bと畜場:9頭)の病畜の牛について、各個体につき血液3種(生前血、放血、心残血)、拭き取り4種(頸椎切断面の洗浄前・洗浄後、頸部表面の洗浄前・洗浄後)の合計7サンプルを4頭ずつ区切って、5回のスクリーニングを実施した。そのため、吸光度の値からの全体の比較は難しいと判断し、RIDAキットに含まれているスタンダードの値から検量線を作成して、それをもとに神経細胞の濃度値(mg/ml)に換算することによって、全体の比較検討を行った。

統計解析はt検定を危険率1%で行った。

今回の調査では測定の際に値が基準値以上で「over」と表示された検体があった。これについては、データ全体で統計解析を実施するために、最も高い「0.664(mg/ml)」という値を代入し、データ処理を行い、また、マイナス表示の出た検体については「0(mg/ml)」として処理した。

### (1)切断面...統計解析結果

背割り直後の比較では平均値において、脊髓吸引装置を用いているAと畜場が低く、t検定の結果でも有意差を認めた(表1)。切断面における洗浄の効果については、2つのと畜場とも洗浄後は有意な値の減少を認めた(表2)。

### (2)頸部表面...統計解析結果

背割り直後の2場間の比較では、平均値が全体的に切断面よりも低く、2場間の差については、脊髓吸引装置を用いている県内Aと畜場の方が若干低い程度で、有意な差は認められなかった(表3)。頸部表面の洗浄前と洗浄後では、2場とも有意な差が認められたが、検体の中には洗浄後の方が値の高いものも確認された(表4)。

### (3)血液...統計解析結果

血液中では平均値としてはかなり低いオーダーだった。その上で検定した結果、県内Aと畜場では生前血と比較して、放血、心残血と徐々に値が上昇し、有意な差をとったが、県内Bと畜場ではAと畜場の様な差は認められなかった(表5)。

### (4)結果のまとめ

#### ・切断面...

背割り直後では県内Aと畜場の方が神経組織の付着が少ない。

洗浄により、両と畜場ともに神経組織汚染の有意な減少が認められた。

#### ・頸部表面...

背割り直後では、と畜場間に神経組織量の有意な差は認められなかった。

洗浄の結果、2場とも付着する神経組織量の有意な減少が認められた。

#### ・血液...

全体の値自体がかなり低かった。

各と畜場において放血、心残血を処理前の生前血と比較を行った結果、県内Aと畜場で有意な差が認められた。

D. 考察

(1) 枝肉：拭き取りについて...

・背割り直後の切断面の神経組織量が県内Aと畜場の方が少なかった事は、脊髓吸引機の有用性を示していると思われる。頸部表面で値の平均値が低く、差が認められなかったのは、脊髓吸引装置を使用していない県内Bと畜場を含め慎重な背割りが行われている事により、脊髓残渣が頸部表面にはそれほど付着していなかった事を示しているのではないかと。

・切断面、頸部表面ともに洗浄によって、神経組織量の有意な減少が見られたことは、洗浄の有用性を示していると思われる。しかし、切断面、頸部表面とも検体によって洗浄後の方が高いものがあり、これは上部、つまり後肢側からの洗浄によって下部、つまり頸部側に神経組織が集まった結果ではないかと。今後は洗浄法の検討も含めた、徹底洗浄が必要と思われる。

(2) 血液に関して...

・結果自体のオーダーがかなり低く、検出限界値以下のものが多数を占めていたのだが、今回はピッシング等の処理による変化を検討するために、あえてそのままの値で統計処理を行った。検体の中には飛び抜けてオーダーの高いものもあったが、これについては今回の様な検体数では、オーダーが高いのがこの検体だけで、特別なものだったのかどうかを断言するのは難しいと思うので、検体数を増やし、さらなる検討が必要と思われる。

・県内Aと畜場の方が生前血より放血、心残血の方が値が高く、有意な差を示した事は、検体の月齢が県内Aと畜場の方が高く、加齢により血管等が脆弱化しており、と殺でそれが傷つきやすくなっている神経組織が混入しやすくなっているのではないかと考えた。

(3) 今後の検討課題...

・作業工程面では今回の結果を踏まえ、脊髓吸引機未使用のと畜場、病畜と室での脊髓吸引機の新規導入や、洗浄のさらなる徹底化、これは下側(頸部側)を特に入念に行うということ、また頭部打撃からピッシング、ステッキング(喉差し)の検討も必要と思うが、これについては作業員の安全性を最優先に考慮したうえでの検討が必要と思われる。

・調査面では少人数(1~2名)ですべての作業をしている病畜に対して、ライン上での流れ作業で処理されている健康畜について、同部位での比較・検討が重要と思われる。特に県内Bと畜場では病畜は脊髓吸引機を用いていない事から重要でと思われる。また、検体数を拡大して、1検体の占める割合を1%未満にし、より偏りのないデータ構築が望まれる。

< 関係図表 > 以下の数値の単位は、ng/ml

(表1) 切断面：洗浄前比較

Aと畜場		Bと畜場	
1	0.038	1	0.664
2	0.027	2	0.662
3	0.362	3	0.081
4	0.019	4	0.037
5	0.013	5	0.073
6	0.394	6	0.041
7	0.010	7	0.664
8	0.036	8	0.664
9	0.526	9	0.229
10	0.117	平均	0.346
11	0.091		
平均：0.148			

(表2) 切断面：洗浄効果比較

Aと畜場			Bと畜場		
	洗浄前	洗浄後		洗浄前	洗浄後
1	0.038	0.004	1	0.664	0.022
2	0.027	0.016	2	0.662	0.006
3	0.362	0.014	3	0.081	0.041
4	0.019	0.012	4	0.037	<b>0.153</b>
5	0.013	0.001	6	0.073	0.000
6	0.394	0.002	7	0.041	<b>0.664</b>
7	0.010	0.000	8	0.664	0.150
8	0.036	0.018	9	0.664	0.003
9	0.526	0.076	10	0.229	0.000
10	0.117	0.021			
11	0.091	0.008			

(表3) 頸部表面：洗浄前比較

Aと畜場		Bと畜場	
1	0.000	1	0.036
2	0.002	2	0.623
3	0.623	3	0.035
4	0.017	4	0.079
5	0.000	5	0.037
6	0.067	6	0.034
7	0.000	7	0.156
8	0.052	8	0.101
9	0.076	9	0.022
10	0.300	平均：	0.125
11	0.013		
平均： 0.105			

(表4) 頸部表面：洗浄効果比較

Aと畜場			Bと畜場		
	洗浄前	洗浄後		洗浄前	洗浄後
1	0.000	<b>0.004</b>	1	0.036	0.009
2	0.002	0.000	2	0.623	0.005
3	0.623	0.015	3	0.035	0.009
4	0.017	0.005	4	0.079	0.075
5	0.000	<b>0.002</b>	6	0.037	<b>0.045</b>
6	0.067	0.000	7	0.034	0.003
7	0.000	0.000	8	0.156	0.082
8	0.052	0.000	9	0.101	<b>0.180</b>
9	0.076	0.004	10	0.022	0.000
10	0.300	0.072			
11	0.013	0.002			

(表5) 血液：平均値濃度

	<平均濃度値>	
	県内Aと畜場	県内Bと畜場
生前血	0.039	0.003
放血	0.055	0.004
心残血	0.056	0.004