

## 食肉処理における牛枝肉の神経組織汚染状況について

南総食肉衛生検査所 ○大岩 洋  
衛生指導課 佐藤 至  
東総食肉衛生検査所 若菜 正行 須田 佐智子  
中央家畜保健衛生所 松本 敦子

### 1. 目的

千葉県で平成 13(2001)年に我が国で初めて牛海綿状脳症(BSE)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ている。

特に、特定部位(SRM)の除去対策としては、平成 14 年 1 月に出了れた厚生労働省通知により脳、脊髄、回腸遠位部など残存しないよう適正に処理することとされているが、脊髄の除去については、多くのと畜場で脊髄吸引装置により脊髄の除去作業を行うようになった。しかし現実としては、と畜の際、枝肉を正中線で切断するため脊髄の残存や脊髄残渣物質の枝肉への付着という問題が懸念されている。

そこで我々は、その脊髄の除去が適正に実施されているかを科学的に検証するため、牛枝肉の神経組織の汚染状況を調査した。

### 2. 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/拭きとり)」  
(製造:  $\gamma$ -Biopharm 社、輸入元: チツソ株式会社、販売元: アヅマックス株式会社)を用いて調査を行った。

(※このキットは中枢神経組織内にの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50頭の病畜の牛を検体として、枝肉の頸部(第三頸椎付近)表面とその内側(切断面)並びに臀部表面とその内側(切断面)について、背割り直後と洗浄後の2回、拭き取り検体とした。

#### (3) 実施方法

##### ①検体採取

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(10 cm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、 $-20^{\circ}\text{C}$ 以下で凍結保存した。

なお、背割り直後の綿棒については、洗浄直後枝肉に洗浄液が付着しているため同じ条件にし、蒸留水に浸してから拭き取りを実施した。

##### ②試料調整

拭き取り検体についてはキット付属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。

### ③ELISA

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 50  $\mu$ l ずつ各ウェルに滴下した。
- ・各ウェルに酵素複合体液を 50  $\mu$ l 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  $\mu$ l 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  $\mu$ l ずつ滴下して、吸光度(450nm)を測定した。

### 3. 結果

(1) 頸部・臀部の表面・切断面の洗浄前後の平均値は表のとおりである。

拭き取り部位		洗浄前	洗浄後
頸 部	表 面	1.52	0.611
	切 断 面	5.66	1.68
臀 部	表 面	0.509	0.467
	切 断 面	8.64	1.27

※表内の値は対数で得られた数値を真数に変換した。単位は ng/100cm<sup>2</sup>

(2) データ処理について

今回の調査では合計で50頭の病畜の牛について、各個体につき、頸部切断面の洗浄前・洗浄後、頸部表面の洗浄前・洗浄後、臀部切断面の洗浄前・洗浄後、臀部表面の洗浄前・洗浄後の合計8サンプルについてスクリーニングを実施した。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 GFAP の濃度値 (ng/ml) に換算することによって、次のとおり全体の比較検討を行った。

ELISA の測定で得られた吸光度を対数変換し、標準液の数値から回帰式を求め、各試料の GFAP 量を求めた。なお、使用した機器(イワキ社製 MDP300)では吸光度が 3.50 以上の場合は「OVER」となるため、吸光度が「OVER」となった試料については吸光度 3.50 として GFAP 量を求めた。得られた各試料の GFAP 量を8サンプルについて平均値を求め、Welch のt検定で平均値の差の検定を行った。

その結果、①頸部表面洗浄前と頸部切断面洗浄後と臀部切断面洗浄後、②頸部表面洗浄後と臀部表面洗浄前、③頸部切断面洗浄前と臀部切断面洗浄前、④臀部表面洗浄前と臀部表面洗浄後の各々の GFAP 量間では 5%の危険率で有意差が認められなかった。

### (3) 結果のまとめ

#### ①表面と切断面

- ・すべての個所において表面より切断面の方が高くなっている。

#### ②頸部と臀部

- ・洗浄前の表面を比較すると頸部の方が高くなっている。
- ・逆に洗浄前の切断面は臀部の方が高くなっている。
- ・洗浄後では表面も切断面も頸部の方が高くなっている。

#### ③洗浄前後

- ・すべての個所において洗浄前より洗浄後の数値は低くなっている。

## 4. 考察

### (1) 枝肉:拭き取りについて

- ・洗浄前の表面で頸部の数値が高くなっていることは、背割りしていく際に鋸刃を洗浄しながら背割りをしていなかったため、神経組織が頸部のところに停滞して飛散したと考えられる。
- ・洗浄前の切断面については、頸部より臀部の方がのほうが高いということは頸部の方から脊髄吸引機を入れているため、臀部に脊髄が残っている可能性があると考えられる。
- ・すべての個所において洗浄によって、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、洗浄後に表面も切断面も頸部の方が高くなっているのは洗浄で上部(臀部側)から下部(頸部側)に神経組織が流れた結果ではないかと考えられる。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) 今後の検討課題…

- ・作業工程面で今回の結果を踏まえ、脊髄吸引については臀部の方まで脊髄が残らないよう吸引の徹底、そして背割り時には鋸刃に脊髄残らないよう鋸洗浄を徹底指導していき、また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。