

**調査資料****3 牛海綿状脳症の発生防止対策等における飼料の動物由来たん白質等のモニタリング結果（平成17年度）**

草間 豊子\*

**1 緒 言**

牛海綿状脳症（BSE）の発生防止のため、独立行政法人農林水産消費安全技術センターでは以前から顕微鏡鑑定による配合飼料中の肉骨粉混入検査を実施してきたが、平成13年9月に国内で牛海綿状脳症が発生したのを契機として、試験研究機関の協力の下、顕微鏡鑑定法<sup>1)</sup>を補完する手法としてPCR法<sup>9)~14)</sup>及びELISA法<sup>15)~17)</sup>による肉骨粉の高感度検出及び動物種の識別法の開発に取り組み、飼料分析法<sup>2), 3)</sup>として確立し、漸次、国内の飼料のモニタリング検査に適用してきた。

平成13年度にこれらの分析手法による魚粉中の牛・豚由来たん白質等のモニタリングを開始し、平成14年度以降は、国内の動物質性飼料及び牛用配混合飼料について、本格的な動物由来たん白質のモニタリングを実施し、その結果を報告<sup>5)~8)</sup>してきた。

平成17年度は、飼料製造工程において牛用飼料に鶏豚用飼料原料の動物由来たん白質が混入するいわゆる交差汚染の防止及び、飼料規制の実効性を確認するため、牛用配混合飼料中のモニタリング検査を重点的に実施した。また、飼料原料として、ほ乳動物由来たん白質等が含まれないことについて農林水産大臣確認の必要な動物質性飼料のチキンミール、フェザーミール及び魚粉について、引き続きモニタリング検査を行った。平成17年4月から、豚肉骨粉及び鶏豚原料混合肉骨粉の鶏豚用飼料への使用が認められたことから、新たに豚肉骨粉等中の反すう動物由来たん白質について大臣確認に伴うモニタリング検査を開始した。さらに、輸入飼料の監視強化に伴い、輸入の牛用混合飼料や飼料原料についてもほ乳動物由来たん白質及び家きん由来たん白質のモニタリング検査を実施した。

平成16年度のモニタリングにおいて、法令上牛用飼料への使用が認められている乳製品や卵製品の混入により、動物由来たん白質が検出される事例が認められたことから、平成17年度は、試験方法として、乳製品の影響を受けないPCR試験法<sup>2), 13), 14)</sup>及びELISA試験法<sup>2), 17)</sup>を導入した。さらに分析法の共同分析を実施し、試験法の妥当性確認及び信頼性の向上を図った。

今回、平成17年度に実施した飼料の動物由来たん白質等のモニタリング結果をとりまとめたので、その概要を報告する。

**2 材料及び方法****2.1 試 料**

平成17年4月から平成18年3月までに、独立行政法人肥飼料検査所（現（独）農林水産消費安全技術センター）本部（さいたま市）、同札幌事務所（現 同札幌センター）、同仙台事務所（現 同仙台センター）、同名古屋事務所（現 同名古屋センター）、同大阪事務所（現 同神戸センター大阪事務所）及び福岡事務所（現 同福岡センター）が、国内の飼料原料工場、配

\* 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部

混合飼料工場及び港湾倉庫等で採取した動物質性飼料 189 検体，国内製造牛用配混合飼料 216 検体及び輸入牛用飼料 35 検体の併せて 440 検体をモニタリング対象とした。

動物質性飼料としては，国内で製造されたチキンミール及びフェザーミール（以下「チキンミール・血粉等」という），豚由来肉骨粉及び原料混合肉骨粉（以下「豚肉骨粉等」という），並びに魚粉や魚荒かす等（以下「魚粉等」という）を主に収集したが，その他に魚粉等を主体とした養魚用混合飼料やフィッシュソリュブル吸着飼料についても収集し，調査を実施した。

牛用配混合飼料としては，育成用，成牛用を問わず幅広く収集した。なお，脱脂粉乳や乾燥ホエー等の乳製品を 10%以上含む代用乳は，対象から除外した。

輸入飼料は，主に牛用配混合飼料及び牛用（A 飼料）単体飼料を採取した。

試料の採取は，飼料等検査実施要領<sup>4)</sup>の病原微生物検査用試料の採取方法に従い，滅菌済み手袋及び滅菌済みスコップを使用し，滅菌済み採取袋に約 500 g を採取した。試料は試験までの間，冷蔵保管した。

## 2.2 試験実施場所

試験は，それぞれ試料の収集先事務所において実施した。

## 2.3 方法

試験は，以下に示す 3 法により行った。

### 1) 顕微鏡鑑定

「反すう動物用飼料への反すう動物由来たん白質の混入防止に関するガイドライン」<sup>1)</sup>に従い，図 1 の方法で獣骨・獣毛・羽毛等（以下「肉骨粉等」という）の有無を鑑定した。

なお，牛用配合飼料に肉骨粉を 0.1，0.2，0.3，0.4，0.5 及び 1%添加した鑑定用対照試料を，試料と同時に処理し，肉骨粉等の混入量を推定した。

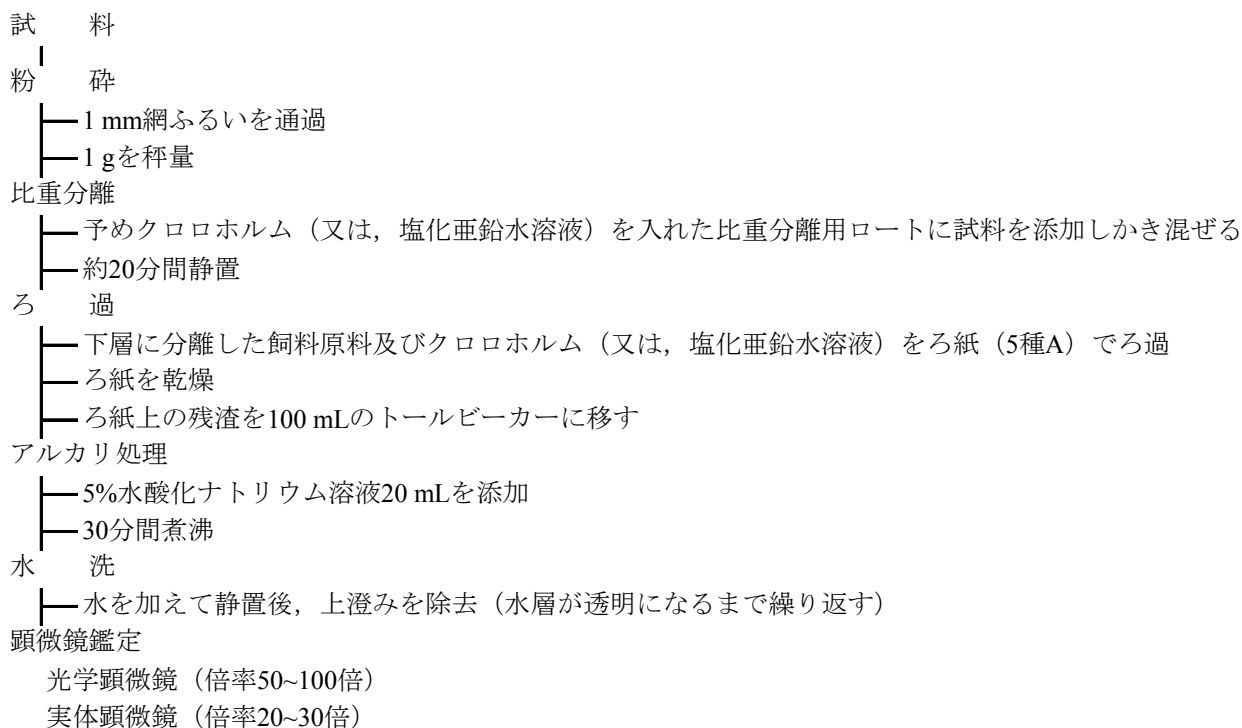


図 1 飼料中の肉骨粉等の顕微鏡鑑定方法

## 2) ELISA 試験

「ELISA による飼料中の動物由来たん白質の検出法」<sup>2), 3)</sup>に基づき、牛用配混合飼料、魚粉等及びチキンミール・血粉等中の牛及び鶏由来たん白質については「モリナガ加熱処理牛（又は鶏）由来たん白質検出キット」（株森永生科学研究所製）を用い、動物質性飼料中の豚由来たん白質については「ELISA-TEK 加工肉種判別キット」（ELISA Technologies 製）を用い、豚肉骨粉等中の反すう動物由来たん白質については、「MELISA-TEK 高度加工肉検出キット 反すう動物用」（ELISA Technologies 製）を用いて試験を実施した。

なお、試験は1検体あたり2点併行で実施し、2点の結果が一致しない場合には、再試験を実施し、再試験の結果が一致しない場合には、陰性と判定した。

試験の概要は以下のとおり。

## 抽出

試料5.0 g

- 0.9%NaCl溶液15 mL
- 振とう15 min
- 遠心分離（2,000 rpm, 5 min）
- 上澄み液（適量）
- 遠心分離（10,000 rpm, 10 min）

## ELISA

## ELISA操作

マイクロプレート（キット付属）

- 試料液，陽性コントロール液，陰性コントロール液及び0.9%NaCl溶液各100 μL
- 1 h反応

（以下キットの操作手順に従う）

測定（プレートリーダー，405及び492 nm波長）

図 2-1 「ELISA-TEK 加工肉種判別キット」による試験方法

## 抽出

試料4.0 g

- 抽出液36 mL
- ホモジナイズ30 s×3
- 約100°C水浴，10分間加熱
- 遠心分離（800~1,000×g, 5 min）
- 上澄み液（適量）
- ろ過（5A）
- ろ液
- 遠心分離（3,000×g, 10 min）
- 上澄み液

## ELISA

## ELISA操作

抗体固相化モジュール（キット付属）

- 試料液，各標準液，陽性対照溶液，陰性対照溶液及びBlank液各100 μL
- 2 h反応

（以下キットの操作手順に従う）

測定（プレートリーダー，450及び620 nm波長）

図 2-2 「モリナガ加熱処理動物由来たん白質検出キット」による試験方法

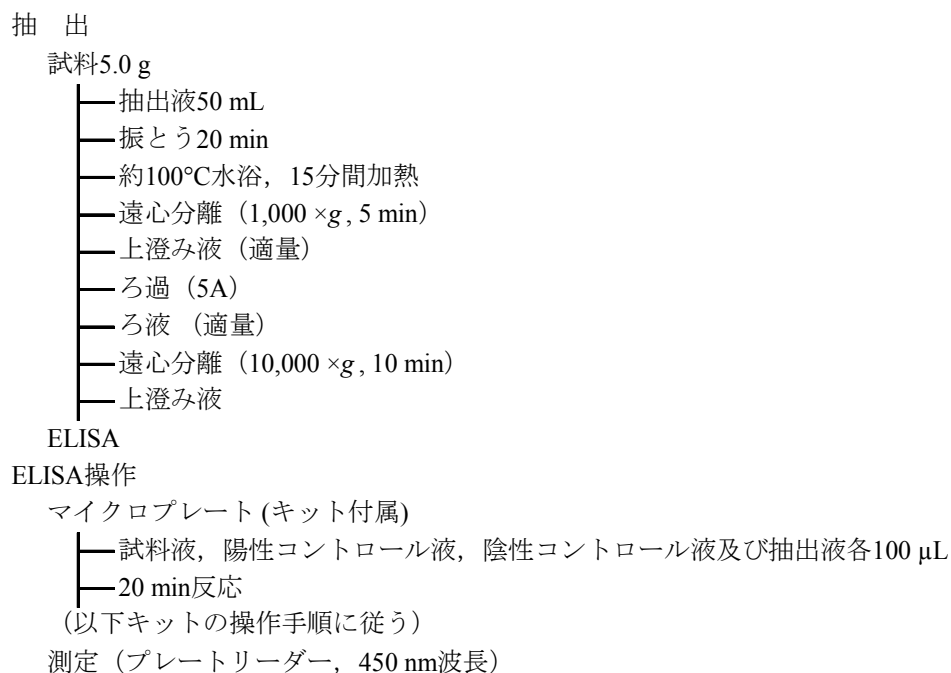


図 2-3 「MELISA-TEK 高度加工肉検出キット 反すう動物用」による試験方法

### 3) PCR 試験

「PCR による飼料中の動物由来 DNA の検出法」<sup>2), 3)</sup>に基づき, 豚肉骨粉等以外の飼料中のほ乳動物由来 DNA 及び家きん由来 DNA の検出を行い, ほ乳動物由来 DNA が検出された場合には, 牛由来 DNA 及び豚由来 DNA の検出を行った。豚肉骨粉等の試験では, 反すう動物由来 DNA の検出を行い, 反すう動物由来 DNA が検出された場合には, 牛由来 DNA の検出を行った。乳製品あるいは卵製品の添加又は混入の可能性のある牛用配混合飼料, 輸入飼料及び豚肉骨粉等については, 乳製品を含む飼料中の肉骨粉の検出法 (以下「乳製品等除去処理」という。) <sup>2), 13), 14)</sup>を行った。

なお, 同時に DNA の抽出確認のためのコントロールとして, 牛用配合飼料については植物由来 DNA の検出を, 魚粉等については魚類由来 DNA の検出<sup>10)</sup>を, チキンミール等については家きん由来 DNA の検出<sup>11)</sup>を, 豚肉骨粉等についてはほ乳動物由来 DNA の検出を行い, コントロール DNA が検出されない場合には, DNA の再抽出を行った。

プライマーは, ほ乳動物検出プライマー対 (anicon 3, anicon 5) (楸プロメガ製, 以下同じ), 反すう動物検出プライマー対 (rumicon32, rumicon52), 牛検出プライマー対 (cow 31, cow 52), 豚検出プライマー対 (pig 32-2, pig 5-3), 家きん (鶏・うずら) 検出プライマー対 (chick3-1, chick5-1), 植物検出プライマー対 (placon 3, placon 5) 及び魚類検出プライマー対 (FM3, FM5) を用いた。

なお, 試験は1検体当たり2点併行で実施し, 2点ともに陽性の場合に検出と判定し, 2点の結果が一致しない場合及び2点とも陰性の場合には, 不検出と判定した。

試験の概要は, 図 3 に示した。

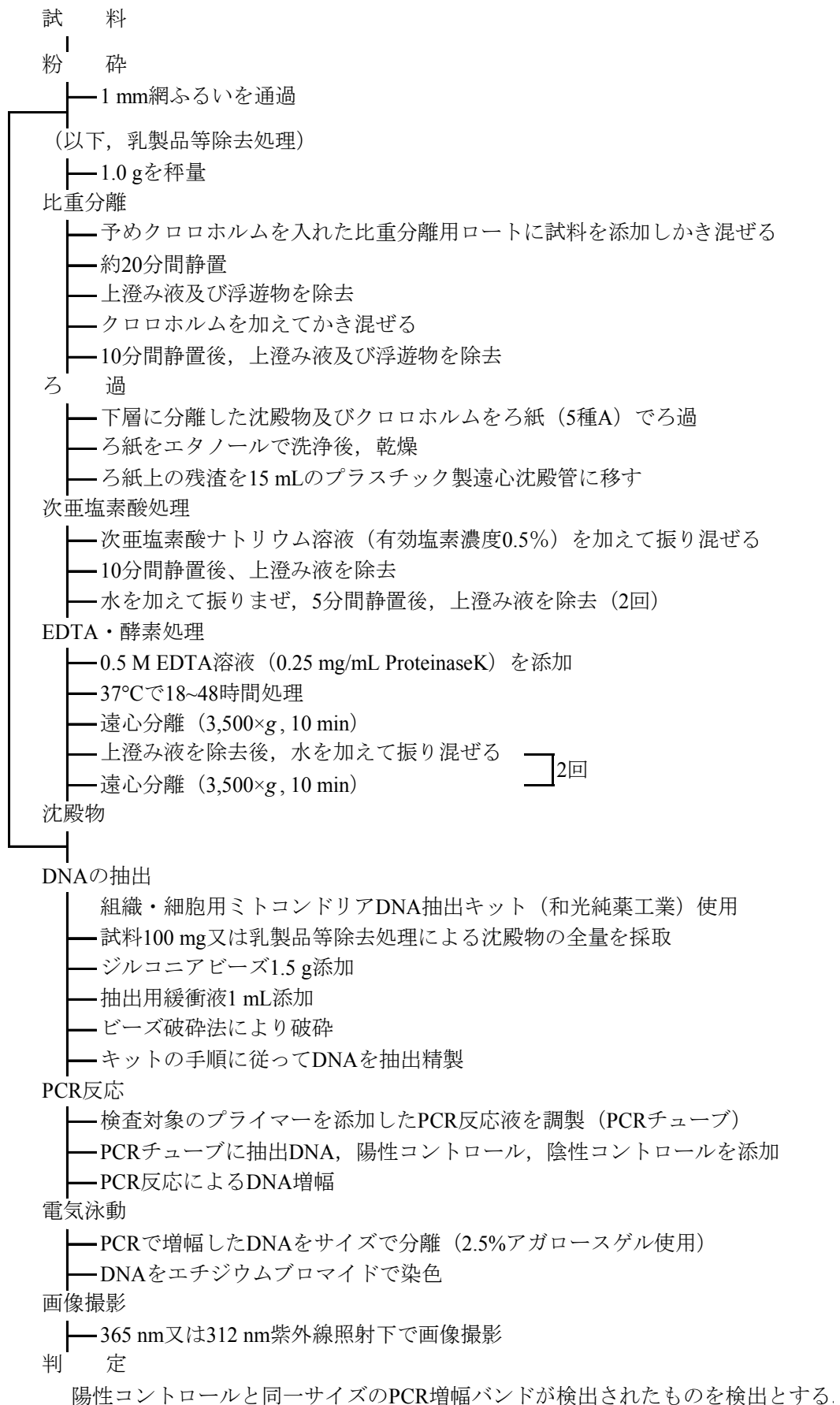


図3 PCR法による動物由来DNAの検出方法

## 4) 動物由来たん白質等の判定方法

顕微鏡鑑定、ELISA 及び PCR 試験の結果から、以下の手順で動物由来たん白質の有無を判定した。

全試料について顕微鏡鑑定を実施し、獣骨・獣毛・羽毛等が検出された場合には「肉骨粉等検出」と判定した。

顕微鏡鑑定の結果にかかわらず、全試料について ELISA 及び PCR 試験を実施し、試験結果が同一の動物種について一致して陽性であった場合には、動物由来たん白質・DNA（以下「動物由来たん白質等」という）検出と判定した。

なお、ELISA 試験では、反すう動物用飼料への使用が認められている乳製品の添加により牛由来たん白質が検出され、卵製品の添加により鶏由来たん白質が検出される場合があることから、これらの混入の可能性のある飼料については、乳・卵製品等除去処理 PCR 試験を実施し、その結果陽性であった場合にのみ検出と判定した。

## 3 結果及び考察

## 3.1 動物質性飼料のモニタリング

動物質性飼料 189 検体について、ほ乳動物由来たん白質等及び家きん由来たん白質等のモニタリングを行った。189 検体の試料の内訳は、チキンミール・血粉等 58 検体、魚粉等 116 検体、豚肉骨粉等 8 検体、その他動物性たん白質を含む飼料 7 検体であった。

これらのモニタリング集計結果は、表 1 に示したとおりであり、動物質性飼料 189 検体のうち、ほ乳動物由来たん白質等が検出されたものは無かったが、魚粉 4 検体で家きん由来たん白質等が検出され、検出率は 2.1%であった。

表 1 動物質性飼料のモニタリング結果（平成 17 年度）

動物質性飼料の 区分	飼料の種類等	試験 検体数	ほ乳動物由来たん白質等		家きん由来たん白質等	
			検出数	検出率 (%)	検出数	検出率 (%)
チキンミール等	チキンミール	35	0	0		
	フェザーミール	23	0	0		
	小 計	58	0	0		
魚粉等 (内訳)	輸入魚粉	3	0	0	0	0
	国内製造魚粉等	113	0	0	4	3.5
	魚粉・魚アラ粕	(97)			(4)	
	だし粕	(6)				
	イカミール	(4)				
	カニ殻	(2)				
	魚鱗コラーゲン	(1)				
	白子ミール	(1)				
	酵素処理魚抽出物	(1)				
	フィッシュソリュブル	(1)				
	小 計	116	0	0	4	3.4
豚肉骨粉等	豚肉骨粉	1	0	0		
	鶏・豚原料混合肉骨粉	7	0	0		
	小 計	8	0	0		
その他	魚介類由来原料を主体とした混合飼料	4	0	0	0	0
	魚粉・大豆油かす 2 種混合飼料	1	0	0	0	0
	フィッシュソリュブル吸着飼料	2	0	0	0	0
	小 計	7	0	0	0	0
合 計		189	0	0	4	2.1

## 1) チキンミール・血粉等

チキンミール 35 検体及びフェザーミール 23 検体の併せて 58 検体について、ほ乳動物由来たん白質等のモニタリングを行った。平成 17 年度は、血粉及び発酵血粉の採取は無かった。

試験の結果は、表 2 に示したように、顕微鏡鑑定で獣骨・獣毛が検出されたものはなかった。ELISA 試験では、牛由来たん白質がフェザーミール 1 検体で陽性であり、豚由来たん白質が 8 検体（チキンミール 5 検体、フェザーミール 3 検体）で陽性であった。

ELISA 陽性の検体を含む 26 検体について、PCR によりほ乳動物由来 DNA の試験を行った結果、フェザーミール 1 検体でほ乳動物由来 DNA が検出された。ELISA 及び PCR で一致して牛又は豚由来たん白質・DNA が検出されたものはなかったことから、総合判定により全てほ乳動物由来たん白質等不検出と判定された。

表 2 チキンミール・血粉等の試験結果（平成 17 年度）

試験方法	検出対象	試験検体数	陽性数	陽性率 (%)
顕微鏡鑑定	獣骨・獣毛	58	0	0
ELISA 試験	牛由来たん白質	58	1	1.7
	豚由来たん白質	58	8	13.8
PCR 試験	ほ乳動物由来 DNA	26	1	3.8
	牛由来 DNA	26	0	0
	豚由来 DNA	26	0	0
		試験検体数	検出数	検出率 (%)
総合判定	ほ乳動物由来たん白質・DNA	58	0	0
(内訳)	牛由来たん白質・DNA	58	0	0
	豚由来たん白質・DNA	58	0	0

## 2) 魚粉等

国内で製造した魚粉・魚アラ粕 97 検体、だし粕 6 検体、イカミール 4 検体、カニ殻 2 検体、魚鱗コラーゲン 1 検体、白子ミール 1 検体、酵素処理魚抽出物 1 検体及びフィッシュソリュブル 1 検体、並びに輸入魚粉 3 検体の併せて 116 検体について、ほ乳動物及び家きん由来たん白質等のモニタリングを行った。

輸入魚粉については、平成 15 年度以降、農林水産省動物検疫所による輸入時の検査との重複を避けるため、製造事業所での採取を原則として取りやめ港湾倉庫での採取としたことから、平成 17 年度は 3 検体のみであった。3 検体の輸出国の内訳は、エクアドル 2 検体及びチリ 1 検体であった。

ほ乳動物由来たん白質等の試験の結果は、表 3 に示したように、顕微鏡鑑定で獣骨・獣毛が検出されたものはなかった。ELISA 試験では牛由来たん白質が 1 検体で陽性であり、豚由来たん白質が 8 検体で陽性であった。PCR 試験ではほ乳動物由来 DNA が 16 検体で検出され、このうち 8 検体で牛由来 DNA が、3 検体で豚由来 DNA が検出されたが、ELISA 及び PCR 試験で一致して陽性の検体はなく、ほ乳動物由来たん白質等不検出と判定された。

家きん由来たん白質等のモニタリングでは、平成 17 年度から全ての検体で顕微鏡鑑定、ELISA 及び PCR 試験を実施した。試験の結果は、顕微鏡鑑定では 116 検体中 3 検体で鳥骨・羽毛が検

出された。ELISA 試験では 116 検体中 6 検体で鶏由来たん白質が検出され、PCR 試験では 30 検体で家きん由来 DNA が検出された。ELISA 及び PCR 試験で一致して家きん由来たん白質・DNA が検出されたものは 4 検体であり、これらは総合判定で家きん由来たん白質等検出と判定された。検出率は 3.4%であった。

家きん由来たん白質等が検出された 4 検体のうち 3 検体は、顕微鏡鑑定においても鳥骨又は羽毛が検出されており、これらの製造事業場において原料及び製造工程を調査した結果、違反となる家きん由来原料は使用されていなかったが、複数の国内及び輸入魚粉を原料として使用していた。これらの調査結果から原因の特定はできなかったが、原料として使用した輸入魚粉への羽毛等の混入及び都市厨芥残渣への食鳥肉等の混入が疑われた。これらの事業場においては、製造工程のクリーニングを実施し、原料収集先での分別等の指導を徹底した後、再度、確認検査を実施した結果は、顕微鏡鑑定、ELISA 及び PCR 試験において、いずれも家きん由来たん白質等は検出されなかった。

なお、ELISA 及び PCR 試験で多数の検体からはほ乳又は家きん由来たん白質等が検出された原因については、卵白やゼラチンや肉エキスなどを添加した食用の水産練り製品等の混入の可能性が推察されたことから、後日陽性検体について、乳製品等除去処理 PCR による確認試験を実施した結果、表 3 のとおり、多くの検体ではほ乳又は家きん由来 DNA が検出されなかった。平成 18 年度以降は、魚粉についても乳製品等除去処理による確認検査を実施している。

表 3 魚粉等の試験結果（平成 17 年度）

試験方法	検出対象	試験検体数	陽性数	(内乳製品等除去処理陽性)	陽性率 (%)
顕微鏡鑑定	獣骨・獣毛	116	0		0
	鳥骨・羽毛	116	3		2.6
ELISA 試験	牛由来たん白質	116	1		0.9
	豚由来たん白質	116	8		6.9
	鶏由来たん白質	116	6		5.2
PCR 試験	ほ乳動物由来 DNA	116	16	(1)	13.8
	牛由来 DNA	116	8	(1)	6.9
	豚由来 DNA	116	3	(0)	2.6
	家きん由来 DNA	116	30	(5)	25.9
		試験検体数	検出数		検出率 (%)
総合判定 (内訳)	ほ乳動物由来たん白質・DNA	116	0		0
	牛由来たん白質・DNA	116	0		0
	豚由来たん白質・DNA	116	0		0
	家きん由来たん白質・DNA	116	4		3.4

### 3) 豚肉骨粉等

平成 17 年 4 月に豚肉骨粉及び鶏・豚原料混合肉骨粉の鶏豚用飼料への使用が認められたことから、平成 17 年度から、新たに豚肉骨粉等のモニタリングを開始した。

平成 17 年度中に大臣確認申請のあったものは、豚肉骨粉等 1 検体及び鶏豚原料混合肉骨粉 7 検体の併せて 8 検体であり、これらについて反すう動物由来たん白質等のモニタリングを行っ



た。

顕微鏡鑑定により豚肉骨粉中の牛由来組織を検出することは困難であるため、豚肉骨粉等の試験は、ELISA 及び PCR 試験により実施した。

また、ELISA 試験は、当初「モリナガ加熱処理牛由来たん白質検出キット」により実施したところ、多数の豚肉骨粉検体で陽性反応が見られた。この原因として、子豚に給与した代用乳等の乳製品等が豚肉骨粉中に混入したためと考えられたことから、豚肉骨粉等の ELISA 試験には、乳製品の影響を受けない ELISA キット「MELISA-TEK 高度加工肉検出キット反すう動物用」を導入し、試験を実施した。PCR 試験は、乳製品等除去処理法を実施した。

試験の結果は、表 4 に示したように、ELISA 及び PCR 試験で反すう動物由来たん白質又は DNA を検出したものはなかった。

表 4 豚肉骨粉等の試験結果（平成 17 年度）

試験方法	検出対象	試験検体数	陽性数	陽性率 (%)
ELISA 試験	反すう動物由来たん白質	8	0	0
PCR 試験	反すう動物由来 DNA	8	0	0
	牛由来 DNA	8	0	0
		試験検体数	検出数	検出率 (%)
総合判定	反すう動物由来たん白質・DNA	8	0	0

#### 4) その他の動物質性飼料

魚介類由来たん白質を含むかあるいは含む可能性のある飼料として、魚粉を主体とした混合飼料 4 検体、フィッシュソリュブル吸着飼料 2 検体及び魚粉大豆かす 2 種混合飼料 1 検体について試験を行った。

試験の結果は、表 1 に示したように、顕微鏡鑑定で肉骨粉等が検出されたものはなかった。ELISA 試験では、混合飼料 1 検体で牛由来たん白質が陽性であったが、PCR 試験ではほ乳動物由来 DNA が検出されず、ほ乳動物由来たん白質等不検出と判定された。

なお、一部の発酵飼料において、コントロール試験の魚類由来 DNA が検出されなかったが、製造過程において魚類由来 DNA が分解されたものと考えられた。

### 3.2 国内製造牛用配混合飼料のモニタリング

平成 17 年度は、216 検体の国内製造牛用配混合飼料について、ほ乳動物及び家きん由来たん白質等のモニタリングを実施した。

飼料の種類の内訳は、表 5 に示したように、ほ乳期子牛育成用配合飼料 8 検体、幼令牛育成用配合飼料 18 検体、若令牛育成用配合飼料 6 検体、肉用牛肥育用配合飼料 78 検体、乳用牛飼育用配合飼料 62 検体、繁殖用・種牛用配合飼料 8 検体及び牛用混合飼料 36 検体であった。

モニタリングの結果、ほ乳動物由来たん白質等又は家きん由来たん白質等を検出したものは、なかった。

表5 牛用配混合飼料のモニタリング結果（平成17年度）

飼料の種類	試験 検体数	ほ乳動物由来たん白質等		家さん由来たん白質等	
		検出数	検出率 (%)	検出数	検出率 (%)
牛用配混合飼料					
ほ乳期子牛育成用	8	0	0	0	0
幼令牛育成用	18	0	0	0	0
若令牛育成用	6	0	0	0	0
肉用牛肥育用	78	0	0	0	0
乳用牛飼育用	62	0	0	0	0
繁殖用・種牛用	8	0	0	0	0
混合飼料	36	0	0	0	0
合計	216	0	0	0	0

## 1) ほ乳動物由来たん白質等

ほ乳動物由来たん白質等のモニタリングでは、全検体について顕微鏡鑑定（獣骨，獣毛），ELISA 及び PCR 試験を実施した。

「モリナガ加熱処理牛由来たん白質検出キット」による ELISA 試験及び通常の PCR 試験では、法令上牛用配合飼料への使用が認められている乳製品によって陽性反応が生ずる可能性があることから、平成17年度から、PCR 試験について乳製品を含む飼料中の肉骨粉の検出法（乳製品等除去処理）<sup>2),13),14)</sup>を導入した。乳製品が添加されている検体及び通常の PCR 試験ではほ乳動物由来 DNA が検出された検体については、乳製品等除去処理による確認検査を実施した。

試験の結果は、表6に示したように、216 検体中顕微鏡鑑定で獣骨・獣毛が検出されたものはなかった。ELISA 試験では、216 検体のうち 34 検体で牛由来たん白質が陽性であった。

PCR 試験では、216 検体中 2 検体でほ乳動物由来 DNA が検出されたが、牛由来 DNA 又は豚由来 DNA が検出されたものはなかった。乳製品が添加された配合飼料は 7 検体であり、乳製品除去処理を実施したものは 19 検体であった。

216 検体のうち PCR 及び ELISA 試験で一致して陽性の検体はなく、総合判定により肉骨粉等の違反となるほ乳動物由来たん白質等を検出したものはなかった。

ELISA 試験で牛由来たん白質陽性の検体が多数あったことについては、配合飼料中の乳製品による陽性反応あるいは大麦，麦芽，ナタネ，ビール粕等による偽陽性反応が原因と考えられ、ELISA キットの改良を検討している。

表6 牛用配混合飼料のほ乳動物由来たん白質等の試験結果（平成17年度）

試験方法	検出対象	試験検体数	陽性数	陽性率 (%)
顕微鏡鑑定	獣骨・獣毛	216	0	0
ELISA 試験	牛由来たん白質	216	34	15.7
PCR 試験	ほ乳動物由来DNA	216	2	0.9
	牛由来DNA	216	0	0
	豚由来DNA	216	0	0
		試験検体数	検出数	検出率 (%)
総合判定	ほ乳動物由来たん白質・DNA	216	0	0

## 2) 家きん由来たん白質等

家きん由来たん白質等のモニタリングでは、平成17年度から全検体について顕微鏡鑑定（鳥骨、羽毛）、ELISA（鶏由来たん白質）及びPCR試験（家きん由来DNA）を実施した。

「モリナガ加熱処理鶏由来たん白質検出キット」によるELISA試験及び通常のPCR試験では、法令上牛用配混合飼料への使用が認められている卵製品で陽性反応を生ずる可能性があることから、平成17年度から、卵製品が添加されている検体及び通常のPCR試験で家きん由来DNAが検出された検体については、乳製品等除去処理PCRによる確認検査を実施した。

試験の結果は、表7に示したように、216検体中顕微鏡鑑定で獣骨・獣毛が検出されたものはなかった。ELISA試験では、216検体のうち1検体で鶏由来たん白質が陽性であった。

PCR試験では、216検体中家きん由来DNAが検出されたものはなかった。卵製品が添加された配混合飼料は1検体であり、乳製品等除去処理を実施したものは4検体であった。

216検体のうちPCR及びELISA試験で一致して陽性の検体はなく、総合判定により違反となる家きん由来たん白質等を検出したものはなかった。

表7 牛用配混合飼料の家きん由来たん白質等の試験結果（平成17年度）

試験方法	検出対象	試験検体数	陽性数	陽性率(%)
顕微鏡鑑定	鳥骨・羽毛	216	0	0
ELISA試験	鶏由来たん白質	216	1	0.5
PCR試験	家きん由来DNA	216	0	0
		試験検体数	検出数	検出率(%)
総合判定	家きん由来たん白質・DNA	216	0	0

## 3.3 輸入飼料のモニタリング

輸入飼料については、平成16年度までは、輸入魚粉についてのみモニタリングを実施してきたが、平成17年度から、新たに輸入飼料の重点検査を開始し牛用飼料等についてモニタリングを実施した。

試料の種類は、表8に示したように、牛用配混合飼料18検体及び飼料原料17検体の併せて35検体であった。輸入飼料の輸入先国は、表9に示したように、アメリカ合衆国が13検体と最も多く、ついで中華人民共和国が7検体、大韓民国が3検体、台湾、カナダ及びオーストラリアが各2検体、デンマーク、英国、オランダ、ノルウェー、フランス及びマレーシアが各1検体であった。

試験の結果は、表10に示したように、顕微鏡鑑定で獣骨・獣毛等が検出されたものはなかった。ELISA試験では、牛由来たん白質が4検体で陽性であり、家きん由来たん白質が2検体で陽性であったが、PCR試験では、乳製品等除去処理による確認試験においてほ乳動物由来DNA又は家きん由来DNAが検出されたものはなく、総合判定では全ての検体がほ乳動物由来たん白質等及び家きん由来たん白質等が不検出と判断された。

表 8 輸入飼料のモニタリング結果 (平成 17 年度)

輸入飼料の区分	飼料の種類等	試験 検体数	ほ乳動物由来たん白質等		家きん由来たん白質等		
			検出数	検出率 (%)	検出数	検出率 (%)	
牛用配混合飼料	牛用配混合飼料	18	0	0	0	0	
飼料原料	大豆油かす	4	0	0	0	0	
	ビール粕	2	0	0	0	0	
	綿実	2	0	0	0	0	
	海藻粉末	2	0	0	0	0	
	ビール酵母	1	0	0	0	0	
	大豆たん白	1	0	0	0	0	
	脂肪酸	1	0	0	0	0	
	乾燥酵母細胞壁	1	0	0	0	0	
	酒粕	1	0	0	0	0	
	ポテトプロテイン	1	0	0	0	0	
	アップルペレット	1	0	0	0	0	
	小計		17	0	0	0	0
	合計		35	0	0	0	0

表 9 輸入飼料の輸入先国 (平成 17 年度)

輸入先国	試験検体数		
	牛用配混合飼料	飼料原料	合計
アメリカ合衆国	8	5	13
中華人民共和国	2	5	7
大韓民国	3	0	3
台湾	2	0	2
カナダ	1	1	2
オーストラリア	0	2	2
デンマーク	1	0	1
英国	1	0	1
オランダ	0	1	1
ノルウェー	0	1	1
フランス	0	1	1
マレーシア	0	1	1
合計	18	17	35

表 10 輸入飼料のモニタリング結果（平成 17 年度）

試験方法	検出対象	試験検体数	陽性数	陽性率 (%)
顕微鏡鑑定	獣骨・獣毛・鳥骨・羽毛	35	0	0
ELISA試験	牛由来たん白質	35	4	11.4
	鶏由来たん白質	21	2	9.5
PCR試験	ほ乳動物由来DNA	35	0	0
	牛由来DNA	35	0	0
	豚由来DNA	35	0	0
	家きん由来DNA	21	0	0
		試験検体数	検出数	検出率 (%)
総合判定	ほ乳動物由来たん白質・DNA	35	0	0
	家きん由来たん白質・DNA	21	0	0

#### 4 まとめ

牛海綿状脳症の発生防止対策の一環として、平成 17 年度に採取した動物質性飼料 189 検体、国内牛用配混合飼料 216 検体及び輸入飼料 35 検体について、顕微鏡鑑定、ELISA 試験及び PCR 試験により動物由来たん白質等のモニタリングを実施した結果は、次のとおりであった。

- 1) チキンミール・血粉等 58 検体についてほ乳動物由来たん白質のモニタリングを実施した結果は、すべてほ乳動物由来たん白質等は検出されなかった。
- 2) 国内製造魚粉等 113 検体及び輸入魚粉 3 検体についてほ乳動物由来たん白質及び家きん由来たん白質のモニタリングを実施した結果、ほ乳動物由来たん白質等が検出されたものはなかったが、家きん由来たん白質等が 4 検体で検出され、検出率は 3.4%であった。これらは、輸入魚粉由来又は都市厨芥残渣中の食肉由来と考えられた。
- 3) 平成 17 年 4 月に豚肉骨粉及び鶏豚原料混合肉骨粉の飼料への使用が認められたことから、これらについてもモニタリングを開始した。平成 17 年度は 8 検体について試験を実施した結果、反すう動物由来たん白質等が検出されたものはなかった。
- 4) 牛用配混合飼料 216 検体について、ほ乳動物由来たん白質等のモニタリングを実施した結果は、ほ乳動物由来たん白質等が検出されたものはなかった。ELISA 試験では、34 検体で牛由来たん白質が陽性であったが、乳製品等除去処理による PCR を実施した結果は、いずれも牛由来 DNA が検出されたものはなく、これらは、法令上牛用飼料への使用が認められている乳製品の混入等によるものと推察された。
- 5) 牛用配合飼料 216 検体について、家きん由来たん白質等のモニタリングを実施した。平成 17 年度は、PCR 試験において、卵製品を含む検体及び通常の PCR 試験で陽性であった検体については、卵製品等の除去処理を実施した。その結果、ELISA 及び PCR 試験において一致して家きん由来たん白質等が検出されたものはなかった。
- 6) 平成 17 年度から、新たに輸入飼料についてモニタリングを実施した。輸入の牛用配合飼料 18 検体及び飼料原料 17 検体について、試験を実施した結果、ほ乳動物由来たん白質等又は家きん由来たん白質等が検出されたものはなかった。

## 文 献

## &lt;分析法通知関係&gt;

- 1) 農林水産省畜産局長通知：“反すう動物用飼料への反すう動物由来たん白質の混入防止に関するガイドラインの制定について”，平成13年6月1日，13生畜第1366号(2001).
- 2) 農林水産省生産局長通知：“飼料中の動物由来たん白質等の検査法について”平成14年4月9日，14生畜第181号(2002).  
最終改正 農林水産省消費・安全局長通知：“「飼料中の動物由来たん白質等の検査法について」の改正について”，平成18年3月17日，17消安第12305号(2006).  
( (独) 農林水産消費安全技術センターホームページ(飼料関係/分析法) :  
<http://www.ffis.famic.go.jp/> )
- 3) 飼料分析基準研究会編：“飼料分析法・解説”第18章 動物由来たん白質・DNA(社団法人日本科学飼料協会発行)(2004).
- 4) 農林水産省畜産局長通知：“飼料等検査実施要領の制定について”，昭和52年5月10日，52畜B第793号(1977).

## &lt;動物由来たん白質のモニタリング関係&gt;

- 5) 草間豊子，日比野 洋，野村哲也，石橋隆幸：飼料研究報告，29，244(2004).
- 6) 草間豊子，日比野 洋，野村哲也，風間鈴子，関口好浩，西村真由美，内山 丈，古川 明，中村行伸，小森谷敏一，堀切正賀寿，三井(小宮)友紀子，千原哲夫，青山恵介，井上智江，下村正之，鬼頭敦司，松崎 学，牧野大作，松崎美由紀：飼料研究報告，29，252(2004).
- 7) 草間豊子，日比野 洋，野村哲也，関口好浩，西村真由美，山本克己，遠藤 剛，石田有希恵，福中理絵，小森谷敏一，堀切正賀寿，三井友紀子，中村志野，井上智江，吉田知太郎，鬼頭敦司，松崎 学，屋方光則，牧野大作，林 美紀子，松崎美由紀，児玉恭子：飼料研究報告，30，138(2005).
- 8) 草間豊子，日比野 洋，野村哲也，野口 淳，遠藤 剛，西村真由美，高橋亜紀子，白澤優子，山本克己，福中理絵，森 有希子，下村正之，小森谷敏一，堀切正賀寿，三井友紀子，牧野大作，吉田知太郎，鬼頭敦司，荒木誠士，屋方光則，林 美紀子，永原貴子，松崎美由紀，児玉恭子：飼料研究報告，31，228(2006).

## &lt;PCR 試験法関係&gt;

- 9) T. Kusama, T. Nomura, and K. Kadowaki: J. Food Protection, 67(6), 1289(2004).
- 10) 野村哲也，草間豊子，門脇光一：食品衛生学雑誌，47(5)，222(2006).
- 11) 野村哲也，草間豊子：飼料研究報告，30，52(2005).
- 12) 草間豊子，野村哲也：飼料研究報告，30，60(2005).
- 13) 草間豊子：飼料研究報告，30，79(2005).
- 14) 草間豊子，関口好浩：飼料研究報告，31，147(2006).

## &lt;ELISA 試験法関係&gt;

- 15) 日比野 洋：飼料研究報告，29，181(2004).
- 16) 日比野 洋：飼料研究報告，31，155(2006).
- 17) 関口好浩，草間豊子：(社)日本食品衛生学会第92回学術講演会講演要旨集，83(2006).