

ニュージーランドのBSE国別評価措置についての公式論評（抜粋）

原文	仮 訳
<p><b>Appendix 4: Does gelatine pose a BSE risk to consumers?</b></p> <p>Stuart C MacDiarmid, Principal Adviser, Zoonoses and Animal Health, New Zealand Food Safety Authority</p> <p>BSE is a member of a family of diseases known as transmissible spongiform encephalopathies (TSEs). These are generally considered to be caused by infection with proteinaceous agents known as a “prions” .</p> <p>In 1996, human cases of a new TSE known as variant Creutzfeldt-Jakob disease (vCJD) were reported in the United Kingdom and were soon shown to be caused by human infection with the BSE agent. Because of this BSE risk to human health, many precautionary measures were implemented around the world at that time. Because of fears that the BSE prion might be present in foods prepared from bovine tissues, including gelatine, precautionary measures to protect consumers were implemented in New Zealand and overseas.</p> <p>However, in the intervening years much has been learned about BSE and the risk to human health, and in a number of countries some of the precautionary measures put in place after 1996 are being reviewed.</p> <p>Total world production of gelatine in 2003 was 278,300 tonnes.<sup>31</sup> Probably around 65% of this was produced from bovine materials.<sup>32</sup> Gelatine is made either from hides or bones and although there are differences in the processes, both involve a series of chemical steps which have some capacity to inactivate the BSE agent.<sup>33, 34</sup></p> <p><b>Raw materials</b></p> <p>Gelatine is produced either from skin or bones of cattle and pigs. BSE is not a</p>	<p>付録4：ゼラチンは消費者にBSEリスクをもたらすか？</p> <p>ニュージーランド食品安全庁 動物衛生および人獣共通感染症 主席アドバイザー Stuart C MacDiarmid</p> <p>BSE は伝達性海綿状脳症(TSEs)として知られている疾病群のひとつである。これらは一般にプリオンとして知られているタンパク病原体の感染によって引き起こされると考えられている。</p> <p>1996年に、variant Creutzfeldt-Jakob 病(vCJD)として知られている、人の新たなTSE がイギリスで報告され、BSE 病原体が人に感染することによって引き起こされたことがまもなく示された。この人の健康に対する BSE リスクのために、その時点で多くの予防的措置が世界中で実施された。ゼラチンなど、牛から作られた食品に BSE のプリオンが含まれているかもしれないという恐れのために、消費者を保護するための予防的措置が、ニュージーランドおよび海外で取られた。</p> <p>しかし時間がたつにつれ、BSE やその人に対するリスクについて多くのことが知られるようになり、多くの国が1996年以降取られてきた予防的措置のいくつかを見直している。</p> <p>2003年のゼラチンの世界総生産量は278,300トンだった。このおよそ65%は牛を原料としているものと考えられる。ゼラチンは獣皮または骨を原料とし、その製造工程には違いがあるものの、いずれの工程にも、BSEの病原体を不活化できる化学的処理段階がある。</p> <p><b>原料</b></p> <p>ゼラチンは牛および豚の皮または骨から製造される。BSE は豚の病気でないた</p>

disease of pigs, so gelatine produced from porcine raw materials has never been of concern.

Hides are considered a safe source of raw material because BSE infectivity has not been found in skin, even in advanced clinical cases.<sup>35</sup> More gelatine is produced globally from skins than from bone.<sup>36</sup> BSE infectivity has been found in the bone marrow in advanced disease in a single experimentally-infected animal<sup>37</sup>, but has not been detected in bone marrow of infected cattle before they show clinical signs.

The global BSE epidemic is in decline, although occasional cases are still detected in countries with a history of feeding cattle on meat and bone meal containing the BSE agent, and occasional cases may also be expected, in future, in countries hitherto considered BSE free.

The first step in processing the bones for gelatine manufacture is to grind them into pieces. Hides and skins are also chopped into small pieces. Hides may arrive at the gelatine plant in the form of 'hide splits', a by-product of the tanning industry. Hide splits are the lower part of the cutis or corium.<sup>38</sup> The upper part of the cutis is used for leather production.

Gelatine is produced either from bone or from skin. The two raw materials are not mixed.

#### Dilution

As with all infections, with BSE there is a minimum level of infectivity necessary to transmit the infection. In the case of transmission to humans, there is also a species barrier to be surmounted.

Should an animal infected with BSE pass ante-mortem inspection and contribute raw materials to gelatine manufacture, its tissues would be diluted by those from a large number of normal, uninfected animals. The average weight of raw material used from one animal, depending on age, will be approximately 10-15 kg.<sup>39</sup> (In New Zealand, where gelatine is manufactured from head skins, the average weight is 3 kg.<sup>40</sup>) The normal batch size used in the industrial production of gelatine varies from around 20,000 to 100,000 kg. (In New Zealand, the normal batch size is 28,000 kg.)

め、豚を原料として作られるゼラチンは問題とされていない。

臨床症状が進行した場合においても、獣皮には BSE の感染性はみられなかったことから、獣皮は安全な原料と考えられている。世界では骨よりも獣皮から、より多くのゼラチンが作られている。実験的に感染させた動物で臨床症状が進行した状態において、骨髄に感染性が見られたケースが 1 例あるが、臨床症状を示す前の感染牛の骨髄では、骨髄に感染性は見られない。

BSE 病原体を含む肉骨粉を牛に給与していた国では未だ散発的発生があり、現在 BSE 清浄と考えられている国で将来、散発的発生があるかもしれないが、世界的には BSE の発生は減少傾向にある。

ゼラチンの製造のための骨の処理の第一歩は、骨を砕くことである。獣皮や皮も小さな断片に切り刻まれる。獣皮は皮をなめした際の副産物である "hide split" としてゼラチン工場に届く場合もある。"hide split" は真皮の下部である。真皮の上部は革製品の製造に用いられる。

ゼラチンは骨または皮から作り出される。2 つの原料は混合されない。

#### 希釈

すべての伝染病と同様、BSE には感染を伝播するのに必要な最低限の感染力がある。人への伝播の場合には、超えなければならない種の壁もある。

もし BSE に感染した動物がと畜前後の検査に合格し、ゼラチン原料として利用されとしても、その組織は多くの感染していない多数の正常牛によって希釈されることとなる。年齢によるものの、1 頭の動物から使用される原料の平均重量はおよそ 10 ～ 15 キログラムである (ゼラチンが頭皮から製造されるニュージーランドでは、平均重量は 3 キログラムである)。ゼラチンの工業生産で使われる通常のバッチサイズはおよそ 20,000 から 100,000 キログラムまで幅がある (ニュージーランドでは、通常のバッチサイズは 28,000 キログラムである)。

This means that the dilution factor of raw material from one animal into an industrial batch is between  $10^{3.5}$  and  $10^5$ . So, regardless of any further treatment, in theory only in advanced clinical disease would there be detectable infectivity in the final product.<sup>41</sup>

In the country with the highest incidence of BSE, the UK, there were 338 cases of the disease in 2004. That is, the annual BSE incidence rate is 68 per million cattle over 24 months of age.<sup>42</sup> This is the highest rate in the world.

Using the data given above for average weight of raw material per animal and average industrial batch size, it can be calculated that the average number of animals contributing to a single batch is 4,800 (SD 1,880).<sup>43</sup> From these data and the annual incidence of BSE in the United Kingdom in 2004, it can be calculated using the software programme @Risk<sup>44</sup> that the mean number of BSE cases which could contribute to a batch of gelatine, assuming that they were to escape detection, would be 0.33 animals per batch (upper 95 percentile, 0.66 animals).

I developed an @Risk simulation model to estimate the likely BSE contamination of gelatine produced in the UK from bones including the vertebral column (vertebral column is actually banned from all food uses in the UK and so is not, in reality, used in gelatine production). If vertebral column of cattle were used in the production of gelatine, BSE infectivity could be present in remnants of spinal cord and associated dorsal root ganglia (DRG). It has been estimated that the weight of DRG in a typical carcass is 30 g and the weight of spinal cord is 200g.<sup>45</sup> The simulation model assumed that something between 0 and 100% of the spinal cord might remain in vertebral column used in gelatine production, but that the most likely quantity was 10%. The model further assumed that all the DRG material would be included.

In an assessment of the risk to human health from inclusion of DRG in foods such as 'T bone' steaks, Comer assumed that the best estimate of the oral infectivity for humans of spinal cord and DRG derived from cases of BSE is 1 human oral ID<sub>50</sub>/g,<sup>46</sup> with a confidence range of 0.0001 to 10.<sup>47</sup>

これは1頭の動物から工業用バッチへの希釈係数が  $10^{3.5} \sim 10^5$  であることを意味する。従ってそれ以降の処置にかかわらず理論的には、高度に臨床的に進行したばあいでは、最終産物に検出可能な感染性は見られないものと考えられる。

BSE の発生がもっとも多いイギリスでは、2004 年に 338 頭の発生が報告されている。すなわち、年あたりの発生率は、24 ヶ月以上の牛百万頭あたり 68 頭であり、これは世界でもっとも高い発生率である。

上記の一頭あたりの原料平均重量と、平均バッチサイズの情報から、単一のバッチに含まれる動物の頭数は平均 4,800 (標準偏差 1,880) と計算された。2004 年のイギリスの年あたり BSE 発生頭数とこれらのデータから、これらの BSE 感染が検出を免れたと仮定し、ソフトウェアプログラムの@Risk を使用した結果、1 バッチに含まれた可能性のある BSE 感染牛頭数は 0.33 頭と計算された (上位 95 パーセンタイル値で 0.66 頭)。

私は@Risk によって、脊柱を含む骨からイギリスでゼラチンを作ったと仮定した場合、BSE の汚染がどの程度になるのかを推定するシュミレーションモデルを開発した (実際にはイギリスでは、脊柱をすべての食品に利用することが禁止されていることから、ゼラチンの生産にも利用されていない)。牛の脊柱がゼラチンの生産で使用される場合、BSE の感染性は脊髄および背根神経節 (DRG) の残さに存在する可能性がある。典型的なと体の DRG 重量は 30 g であり、脊髄の重量は 200g であると推定されている。シミュレーションモデルではゼラチンの製造に利用される脊柱に付着する脊髄の割合として 0 ~ 100% のいくつかを仮定したが、もっとも可能性が高い量は 10% である。さらに、すべての DRG が残ると仮定した。

T ボーンステーキのように DRG を含む食品からの人の健康へのリスクを評価した際、Comer は BSE 感染牛の脊髄と DRG が持つ人への経口による感染力の最良推定値を 1 ヒト経口 ID<sub>50</sub>/g、信頼幅を 0.0001 から 10 と仮定している。

Using the data outlined above, the @Risk model estimated that the mean BSE contamination of raw material containing vertebral column of UK origin (an extremely unrealistic scenario) would be  $9.8 \times 10^{-7}$  human oral ID<sub>50</sub> /Kg (upper 95%  $3.03 \times 10^{-6}$ ).

It can be expected, on the basis of experimental studies described below, that this quantity of BSE infectivity is likely to be eliminated entirely by the processes used to manufacture gelatine.

#### Removal of hair

After skin has been chopped into small pieces, hair is removed by tumbling in drums containing a mixture of sodium sulphide and lime.<sup>48</sup> This process not only removes the hair, but would also be expected to remove any surface contamination with tissues (such as brain) which might contain BSE agent. Hide splits, which are a by-product of the tanning industry, do not have hair.

#### Bone degreasing

Bone itself is free from BSE infectivity, but infectivity has been detected in bone marrow in a single advanced clinical case in an experimentally-infected animal. Infectivity is, of course, present in high concentration in spinal cord and dorsal root ganglia, both of which can be expected to contaminate vertebral column used to produce the degreased chipped bone (DCB) used in the manufacture of gelatine.

Before bone can be used to manufacture gelatine, fat must be removed. This is done by crushing the bones to a particle size of less than 12 mm and then washing and degreasing the resulting chips with hot water to remove residues of fat, marrow and other soft tissues such as spinal cord and dorsal root ganglia.

(In Europe, where BSE is present, vertebral columns are classified as 'specified risk material' (SRM) and are not used in gelatine production.)

Studies conducted on the ability of the degreasing process to remove nervous tissue proteins from bones demonstrated that degreasing eliminated 98% to 99% of such proteins.<sup>49</sup> It has been estimated that the degreasing process alone would reduce any BSE contamination of bone by a factor of approximately  $10^2$ .<sup>50</sup>

このようなデータを使用した結果、@Risk モデルはイギリス由来の(非常に非現実的なシナリオ)の脊柱を含んだ原料について、BSE 汚染の平均は  $9.8 \times 10^{-7}$  ヒト経口 ID<sub>50</sub> /Kg (上位 95%で  $3.03 \times 10^{-6}$ )であると推定した。

後述する実験的研究に基づけば、この程度の BSE 感染性はゼラチンの製造に使用される工程によって完全に除去されると期待することができる。

#### 脱毛処理

皮を小さく切り刻んだ後、硫化ナトリウムおよび石灰の混合物が入ったドラムで転がすことによって毛が取除かれる。このプロセスでは毛を取除くだけでなく、BSE 病原体を含む可能性のある(脳のような)組織によるいかなる表面の汚染も取り除くものと期待される。皮をなめす際の副産物である Hide split には毛はない。

#### 骨の脱脂処理

骨自体には BSE の感染性はないが、実験感染により病気が進行した動物の 1 例で骨髓に検出されている。当然のことながら感染力は、脊髓および背根神経節に高濃度に存在し、これが、ゼラチンの製造で使用する脱脂処理した粉碎骨(DCB)を作るのに使われる脊柱を汚染する可能性がある。

骨をゼラチン製造に使用する前に、脂肪をとり除かれなければならない。まず、12 ミリメートル以下の粒になるよう骨を押しつぶし、脂肪、骨髓、脊髓および背根神経節といったその他の軟組織を熱湯により洗浄及び脱脂し取り除く (BSE が発生しているヨーロッパでは、脊柱は SRM に分類され、ゼラチン製造には利用されていない)。

脱脂工程が骨から神経組織タンパクを除去する能力について研究した結果、神経組織タンパクは 98 ~ 99% 除かれることが判明している。脱脂工程だけでも BSE の汚染は約  $10^2$  の分の 1 になると推定されている。

### Acid treatment

Before bone chips can be used to produce gelatine, the minerals calcium and phosphorus must be removed. This is achieved by immersion of the DCB in hydrochloric acid (approximately 4%, <pH 1.5) for a period of at least 2 days. This intensive acid treatment changes the internal structure of the collagen protein, from which gelatine is extracted, as well as the structure of the BSE prion protein. On the basis of previous studies<sup>51</sup>, this acid treatment would be expected to reduce the titre of any BSE infectivity which might be present. The demineralized bone is known as ossein.

### Alkaline treatment

The next step in the production of gelatine is to soak the materials (pieces of skin or ossein) in a saturated lime solution, >ph 12.5, for a period of between 20 and 50 days<sup>52,53</sup> (40 in New Zealand.<sup>54</sup>)

A treatment sometimes used with a raw material known as hidesplits (split form of skin) is to soak the material in 0.3n sodium hydroxide (caustic soda) for around 14 days.

As with the acid treatment referred to above, this alkaline treatment changes the internal structure of the collagen protein, as well as the structure of the BSE prion protein. On the basis of studies conducted into the destruction of TSE agents<sup>55</sup>, it has long been expected that the time, temperature and concentration of these alkaline treatments would significantly reduce the titres of any BSE infectivity present in the raw materials.<sup>56</sup>

### Further acid treatment

Some gelatine is also produced from ossein (demineralized bone) by an acid process, rather than by an alkaline one. In this acid process, the ossein is immersed for 12-24 hours in dilute acid at pH2-3.5.

### Extraction of gelatine

After the skin or ossein has been subjected to alkaline or acid treatment, gelatine is extracted by a series of hot water steps. The gelatine extract is purified by filtration through diatomaceous earth and cellulose filter plates, and this process removes

### 酸処理

ゼラチン製造に骨片を用いる前に、ミネラル、カルシウムおよびリンを取除く必要がある。これは、少なくとも2日間、塩酸(およそ4%、<pH 1.5)にDCBを浸すことによって達成される。この集中的な酸処置はゼラチンが抽出されるコラーゲン蛋白質の内部構造と同時に、BSEのプリオン蛋白質の構造も変化させる。既存の調査から、この酸処理により、BSEの感染力は存在したとしても減少することが期待されている。脱塩された骨はオセインとして知られている。

### アルカリ処理

ゼラチンの生産の次のステップは、原料(皮片又はオセイン)をph 12.5超の飽和石灰水に20～50日(ニュージーランドの場合40日間)浸すことである。

hidesplits(裂かれた皮)と言われる原料については、およそ14日間0.3規定の水酸化ナトリウム(苛性ソーダ)に浸す処理が用いられることもある。

先に述べた酸処置と同じように、このアルカリ処理はコラーゲタンパクの内部構造と同時にBSEプリオン蛋白質の構造も変化させる。TSE病原体の破壊についての研究調査に基づき、これらのアルカリ処置の時間、温度および濃度のもとでは、原料に存在するあらゆるBSEの感染力が著しく減少するだろうと、長い間期待されている。

### 追加的な酸処理

ゼラチンはオセイン(脱塩骨)から、アルカリ処理工程ではなく酸処理工程で作られることもある。酸処理工程では、オセインは12～24時間、pH2～3.5の希酸に浸される。

### ゼラチンの抽出

皮またはオセインがアルカリまたは酸処理された後、一連の熱湯を用いた過程によりゼラチンが抽出される。抽出されたゼラチンは珪藻土およびセルロースフィルター板を通したろ過によって精製され、この過程で浮遊粒子は取除かれ

suspended particles.<sup>57,58</sup>

The purified gelatine solution is concentrated by evaporation in partial vacuum and the concentrated solution is sterilized by UHT treatment of at least 138 ° C for at least four seconds.<sup>59</sup> It is likely that the filtration and sterilization processes also remove some BSE infectivity, in the unlikely event that any should be present by this stage of production.

### Experimental studies

Relatively recently, the results of experimental studies have been published confirming risk assessments made earlier. An accurately scaled down laboratory process was developed to measure the effect of gelatine manufacturing processes on BSE infectivity. The experiment used crushed bones and intact calf vertebral columns. The crushed bone was smeared ( "spiked" ) with mouse brain infected with the 310V strain of mouse-passaged BSE. The same brain was injected into the spinal cord of the vertebral columns. The 301V strain of BSE was selected because it has a high infectivity titre and is one of the most heat-resistant TSE strains.<sup>60</sup>

The BSE infectivity of the spiked starting material was  $10^{8.4}$  mouse intracerebral ID<sub>50</sub> /Kg. Clearance factors of  $10^{2.6}$  and  $10^{3.7}$  ID<sub>50</sub> were demonstrated for the first stage of the acid and alkaline processes (see above) respectively. The complete acid and alkaline processes both reduced infectivity to undetectable levels, giving clearance factors of  $>10^{4.8}$  ID<sub>50</sub> for the acid process and  $>10^{4.9}$  ID<sub>50</sub> for the alkaline.<sup>61</sup>

The level of infectivity used in the experiments reflect worst-case conditions. The experiment did not take into account the very large effect of dilution of raw materials referred to above. Even if a BSE-infected animal contributed a vertebral column to an industrial batch of raw material, the concentration of BSE prion in the batch would not be as great as achieved by the "spiking" described in the experimental study.

### Conclusions

In the years since the public health risk posed by BSE was first recognized, much has been learned about the disease. It is now clear that humans are relatively difficult to infect by mouth and that the BSE epidemic is largely under control

る。

精製されたゼラチン溶液は、不完全真空蒸発により濃縮され、濃縮液は少なくとも4秒、138 ° C以上のUHT処置によって殺菌される。それまでの過程で感染力が残ることはほとんどないが、この濾過、殺菌処理もいくつかのBSE感染力を除くようである。

### 実験による研究

比較的最近、以前実施したリスク評価の結果を確認する実験結果が発表された。正確に縮小された実験室内プロセスが、BSEの感染性に対してゼラチンの製造工程が持つ効果を測定するために開発された。実験は粉碎骨および子牛の脊柱を使用した。粉碎骨にはマウスで経代された301V系統のBSEに感染したマウスの脳が塗りつけられ（スパイクされ）た。同様にこの脳は脊柱の脊髄にも注入された。BSEの301V系統は高い感染力を持ち、耐熱性がもっとも強いTSE系統の一つであることから、この実験に用いられた。

スパイクされた原料のBSE感染力は $10^{8.4}$  マウス脳内ID<sub>50</sub>/Kgだった。第一段階の酸及びアルカリ処理(すでに示した説明を参照)では、それぞれ除去効率 $10^{2.6}$  および $10^{3.7}$  ID<sub>50</sub>の結果が得られた。酸およびアルカリ処理を完全に終了した後は、感染力は検出不可能なレベルに減少し、除去効率は酸処理で $>10^{4.8}$  ID<sub>50</sub> およびアルカリ処理で $>10^{4.9}$  ID<sub>50</sub> と計算された。

この実験に適用された感染力のレベルは最悪の場合の条件に相当する。この実験では、既に述べた原料の希釈による多大な影響を考慮に入れていない。BSEに感染した動物の脊柱が原料バッチに含まれたとしても、バッチの中のBSEプリオンの濃度は、この実験で記述されている"スパイク"によって得られた状況ほど大きくはないであろう。

### 結論

BSEによる公衆衛生上のリスクが最初に確認されて以来、この病気について多くのことが学ばれた。人間に対しては経口では比較的感染しにくいこと、そしてBSEの流行が国際的に管理されていることが今日明らかになっている。これ

<p>internationally. This means that any batch of raw material used to produce gelatine is highly unlikely to contain sufficient BSE to be able to infect humans consuming products made from it. Further, recent experimental studies have confirmed what was long suspected; namely, the described chemical processes used in the manufacture of gelatine are sufficient to inactivate any BSE infectivity which might have been present in the raw material from which the gelatine is made, even under “worst case” conditions.</p>	<p>はゼラチンを作り出すのに使用される原料のどのバッチを利用しても、そこから作られる製品を消費した人間を感染させるのに十分な BSE 病原体を含むことはまずないことを意味する。更に、最近の実験によって長い間議論されてきたことが確認されている；即ち、ここで記された化学工程は、例え最悪の状況下でも、ゼラチンを製造するための原料に存在するかもしれないあらゆる BSE の感染性を十分不活化するものである。</p>
<p>Gelatine produced by modern industrial processes can thus be considered to pose no BSE risk to consumers, regardless of the source country from which it is derived.</p>	<p>その結果、現代の工業的工程によってつくられるゼラチンは、原料の原産国にかかわらず、消費者に BSE のリスクをもたらしことはないと考えられる。</p>
<p><b>Acknowledgment</b> I thank Dr. Uwe Seybold, DGF Stoess AG, Eberbach, Germany and Dr David Taylor, SEDECON 2000, Edinburgh, Scotland for their critical review of this paper.</p>	<p>謝辞 このペーパーを評価して頂いたドイツ Eberbach、DGF Stoess の Uwe Seybold 博士、スコットランド、エジンバラ、SEDECON2000 の David Taylor 博士に感謝致します。</p>