

## 平成29年度調査研究

1. 平成29年度残留抗菌性物質検査結果	…	1
2. 仙台市ミートプラントの新小動物解体施設について ～新小動物解体施設における解体ラインの現状と今後の課題について～	…	5
3. 当所の迅速病理診断手法と全国食肉衛生検査所協議会病理研修会 症例集検索システムを用いた検索が確定診断に有効であった 仔牛胎児性癌の1例	…	10

## 1. 平成29年度残留抗菌性物質検査結果

### 1. はじめに

食品中への抗菌性物質の残留は、耐性菌の出現や食品アレルギーの誘引になるとも言われており、食品衛生法（食品、添加物等の規格基準）により規制されている。本所においても、昭和59年より食肉中の残留抗菌性物質について検査を実施してきたところであり、以下に平成28年度の検査の概要を報告する。

### 2. 検査対象

と畜場に搬入された獣畜のうち、次に該当する獣畜を検査対象とした。

- (1) 病畜として搬入された獣畜。
- (2) 健康畜として搬入された1歳未満の牛（とく）。
- (3) 健康畜として搬入され、敗血症を疑わせる所見を認めた獣畜。
- (4) 健康畜として搬入され、抗菌性物質の使用を疑わせる所見を認めた獣畜。

### 3. 方法

本所独自法に従って検査を行った。

#### (1) プレミテストによる簡易法

平成20年4月から腎臓、筋肉について実施。

※プレミテストは製造元r-biopharm社、輸入元アヅマックス(株)の検査用培地で、厚生省通知（平成6年7月1日衛乳第107号）に基づく簡易法よりも迅速かつ高感度である。詳細は平成21年度事業概要の調査研究資料「プレミテストによる残留抗菌性物質の簡易検査法の検討」等を参照のこと。

#### (2) LC/MS/MSIによる残留抗菌性物質一斉分析法

簡易法により残留抗菌性物質陽性と判定された獣畜の筋肉についてLC/MS/MSIによる一斉分析を行った。当所では、妥当性評価試験により妥当性が得られた32成分を定量可能物質とし、残り12成分は定性可能物質として分析を行っており、表1に定量可能物質32成分を示した。

表1 平成29年度 LC/MS/MSによる残留抗菌性物質一斉分析法の定量可能物質

対象成分名	
トリメプリム	スルファメキサゾール
スルファメラジン	スルファドキシム
マルボフロキサシン	フロルフェニコール
オキシテトラサイクリン	ドキシサイクリン
オルメプリム	オキシリニック酸
チアンフェニコール	スルファジメトキシム
シプロフロキサシン	スルファキノキサリン
テトラサイクリン	タイロシン
ダノフロキサシン	ベンジルペニシリン
スルファジミジン	エリスロマイシン
エンロフロキサシン	デキサメタゾン
セファゾリン	オキサシリン
オルビフロキサシン	メンブトン
スルファモノメトキシム	クロキサシリン
スルファクロルピリダジン	ナフシリン
クロルテトラサイクリン	ジクロキサシリン

#### 4. 結果および考察

簡易法の検査結果を表2に示した。簡易法により腎臓から抗菌性物質が検出されたものは、検査を行った234頭のうち12頭であり、その内訳は牛9頭、とく2頭及び豚1頭であった。

簡易法で腎臓陽性となった獣畜の筋肉を用いて、LC/MS/MSによる残留抗菌性物質一斉分析(独自法)を行った。その検出状況を表3に示した。筋肉においてチルミコシンが陽性であったとくは、基準値超過の蓋然性が認められたため、出荷者により自主廃棄された。

平成20年度から平成29年度までの、簡易法による腎臓からの抗菌性物質の検出頭数(腎陽性率)を表4、図1に示した。平成27年度までは5%前後を推移していたが、平成28年度は1.5%と大きく減少した。しかし、平成29年度は再び5.1%と大きく増加した。また、平成29年度に簡易法で腎臓陽性となった12頭のうち、3頭は抗菌性物質の投薬歴がないもの、2頭は抗菌性物質の投薬歴申告があったもの、7頭は聞き取り調査により抗菌性物質投与が判明したものであった。今後は、荷受会社を通じ出荷者に対して投薬歴申告の徹底と薬剤の適切な使用を促すとともに、抗菌性物質を含めた動物用医薬品の検査を継続し、安全な食肉の供給に寄与していきたい。

表2 平成29年度 簡易法検査結果

	牛		とく		豚		小計		総計
	健康畜	病畜	健康畜	病畜	健康畜	病畜	健康畜	病畜	
検査頭数	30	144	14	5	41	0	85	149	234
腎陽性頭数	3	6	1	1	1	0	5	7	12
腎陽性率(%)	10.0	4.2	7.1	20.0	2.4	0	5.9	4.7	5.1
腎筋陽性頭数	0	0	0	1	0	0	0	1	1
腎筋陽性率(%)	0	0	0	20.0	0	0	0	0.7	0.4

表3 一斉分析法による検出状況

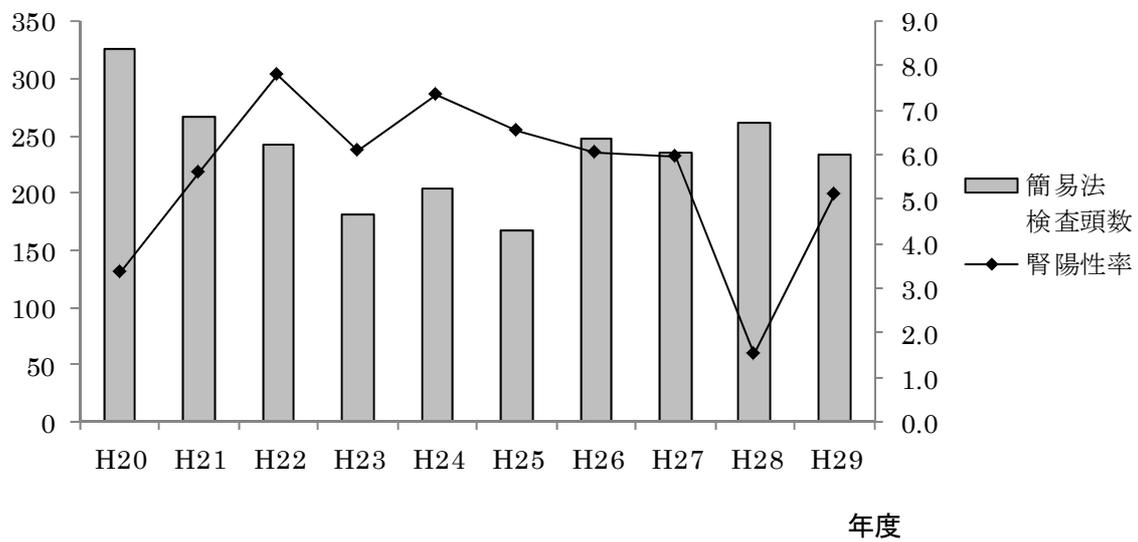
畜種	検出物質	検出濃度(ppm)	残留基準値(ppm)
とく	チルミコシン	陽性	牛の筋肉:0.1

表4 過去10年間の簡易法による腎臓からの抗菌性物質検出頭数の推移

	牛	とく	豚	計
平成20年度	7( 6)	2( 0)	2( 1)	11( 7)
平成21年度	10( 8)	2( 1)	3( 2)	15(11)
平成22年度	10( 8)	4( 0)	5( 1)	19( 9)
平成23年度	8( 5)	0( 0)	3( 1)	11( 6)
平成24年度	9( 5)	2( 0)	4( 0)	15( 5)
平成25年度	8( 5)	1( 0)	2( 1)	11( 6)
平成26年度	12( 7)	1( 0)	2( 1)	15( 8)
平成27年度	10( 4)	3( 0)	1( 0)	14( 4)
平成28年度	2( 1)	2( 0)	0( 0)	4( 1)
平成29年度	9( 6)	2( 1)	1( 0)	12( 7)

(( )は病畜の頭数:再掲)

図1 過去10年間の簡易法による腎臓からの抗菌性物質検出頭数の推移



## 2. 仙台市ミートプラントの新小動物解体施設について

### ～新小動物解体施設における解体ラインの現状と今後の課題について～

#### 1. はじめに

仙台市ミートプラントでは、搬入される獣畜は大動物解体施設(牛・馬)と小動物解体施設(豚)のそれぞれ独立した施設でと殺・解体処理がおこなわれている。

この過程で獣医師である「と畜検査員」が全ての獣畜を 1 頭ずつと畜検査(生体検査、解体前検査及び解体後検査)を行っている。

以前の小動物解体施設は、昭和 50 年 4 月の竣工後、老朽化による建て替えが計画されていたが、東日本大震災での耐震性の低下から新設が決定した。

新施設は、「安全で衛生的かつ良質な食肉を確保する」ため枝肉の接触防止機構や高度な洗浄消毒機器等を導入し、1 日の最大処理頭数を 950 頭として平成 28 年 3 月から稼働した。

今回、当該新小動物解体施設における枝肉の衛生状態を確認するため工程別のふき取り検査を行うとともに、検査結果をもとにした改善の取組みについて報告する。

#### 2. ふき取り検査概要

- (1) 対象施設:仙台市ミートプラント小動物解体施設
- (2) 検査日:平成 29 年 2 月 6 日、14 日の 2 日間
- (3) 検査対象:新小動物解体施設でと畜解体された豚枝肉(各日 6 頭ずつ合計 12 頭)
- (4) ふき取り場所:新小動物解体ライン①剥皮前②剥皮後③自動洗浄後
- (5) 検査項目:一般細菌数(cfu/cm<sup>2</sup>)
- (6) 検査方法:豚左側枝肉体表の胸部及び臀部をふき取り検査枠(10cm×10cm)を用いてふき取り、1cm<sup>2</sup>あたりのコロニー数(cfu)を算出した。培養は、ACプレート培地(一般細菌数測定用)37°Cで 48 時間培養し、平板上に形成されたコロニー数を測定した。  
(厚生労働省「と畜場における枝肉の微生物汚染実態調査等について」に準拠)

#### 3. 検査結果

##### (1) 豚枝肉ふき取り検査結果

枝肉の胸部及び臀部でのふき取り検査結果を図 1、2 に示した。当所で独自に定めた最終製品の指導目標値である一般細菌数 100cfu/cm<sup>2</sup>未滿を超過したものが、臀部で 2 頭(case b、c)

みられたが、胸部の超過はなかった。

臀部の菌数は、胸部より高い傾向を示した。(case b~l)また個体毎では①剥皮前③自動洗浄後の比較から剥皮前の段階で菌数の多いものは、最終工程でも菌数が多い傾向であった。

①剥皮前②剥皮後の比較から剥皮工程で菌数が増加しており特に胸部で顕著であった(胸部では 11 頭 case e を除く全て、臀部では 4 頭 case a、c、f、g)。

図1 胸部の枝肉ふき取り検査結果(一般細菌数の推移)(cfu/cm<sup>2</sup>)

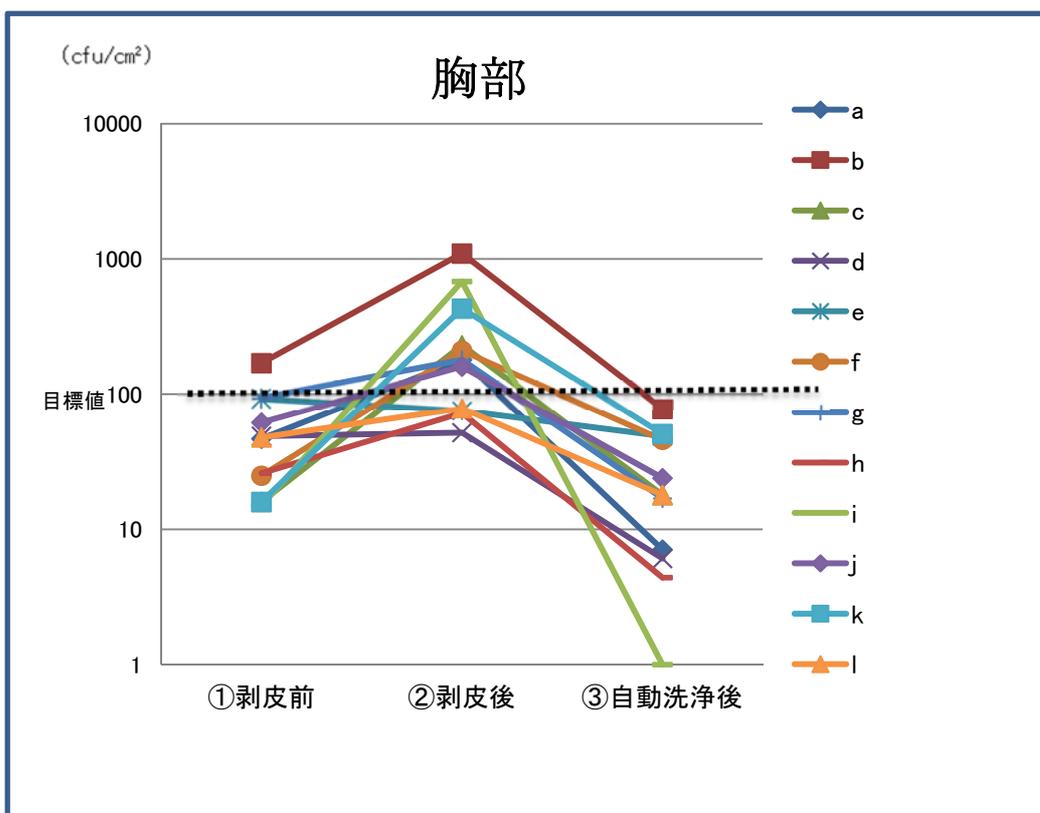
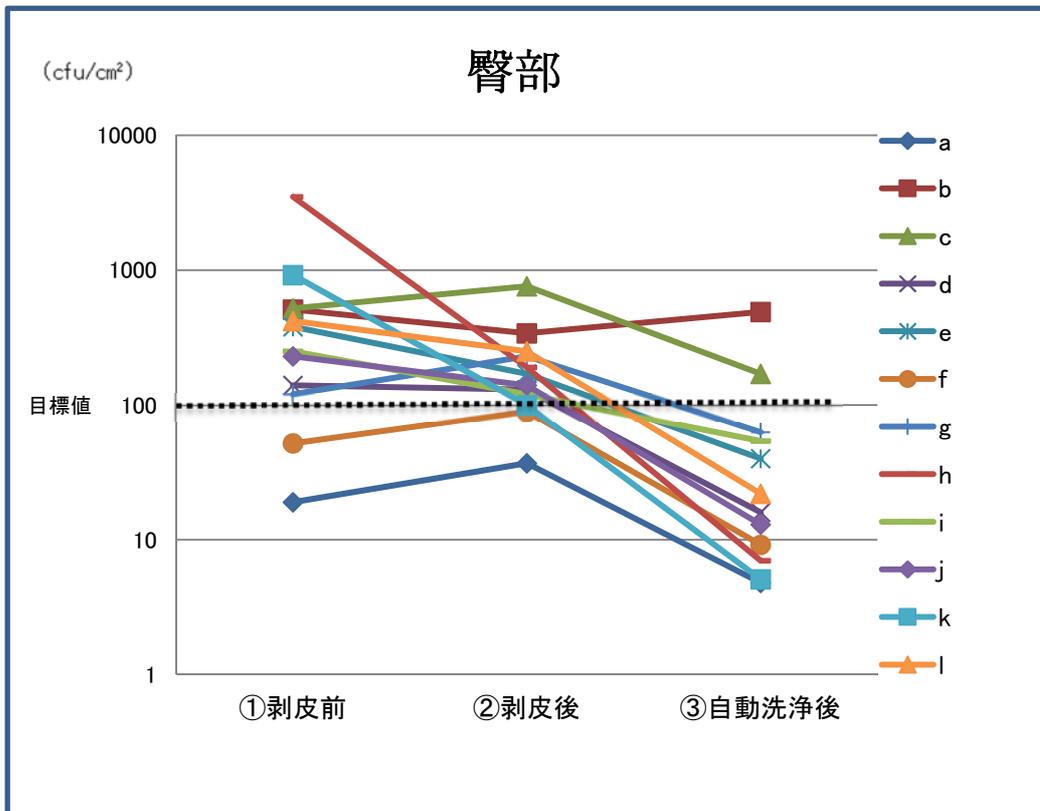


図2 臀部の枝肉ふき取り検査結果(一般細菌数の推移)(cfu/ cm<sup>2</sup>)



#### 4. 考察及びまとめ

新小動物解体施設での豚枝肉のふき取り検査では、臀部の菌数が胸部より高い傾向であったことから、生体の体表に付着した糞便汚染等が影響していると考えられた。また剥皮作業前後で菌数が多くなる傾向があるのは、枝肉を剥皮する工程の際、スキンナー(剥皮装置)に剥皮前のと体の外皮が接触した後に剥皮され、その後剥皮された肉表面部分が再び器具の同じ場所に接触するためと思われた。外皮の接触後、器具は 83℃以上の温湯で消毒されているものの、剥皮前のと体の汚れが一定以上の場合には、短時間の温湯による消毒では、細菌を殺滅できないためと思われた。すなわち、豚の外皮の汚れが最終製品である枝肉の菌数に大きく影響を及ぼしている可能性があり、原因として係留所の清掃や生体洗浄の不足が考えられた。

#### 5. 今後の衛生指導

新小動物解体施設は、枝肉の接触防止機構や高度な洗浄消毒機器等が導入されたものの、枝肉のふき取り検査で指導目標値を超過した枝肉が認められた。細菌数が高くなる工程の原因

は、生体やと体の洗浄不足、標準作業手順書(SSOP)からの逸脱並びに作業従事者の意識不足等が考えられた。

このため、作業従事者は、担当する工程の危害を理解したうえで作業を行う必要がある。

と畜解体作業は、加熱等の工程を採用できないこと、各作業従事者は処理ラインのスピードに合わせて作業する必要があること並びに各作業は細分化され特異性が高いことなどの特性がある。

こうした特性があることを前提に有効な改善指導を行うために、場内の関係機関の責任者で構成される自主衛生管理の組織である食肉衛生検討会において、今回のような検査結果や監視指導の結果を単なる指摘事項の説明でなく参加者の理解度に合わせて、指摘内容のビジュアル化(写真やグラフ)とともに具体的な改善策を提示するなど、関係者間での情報の共有化を図り改善のスピードアップを目指している。

また、法改正によりと畜場の HACCP が制度化される見込みであることから、場内の関係機関と連携しながら食肉の安全性確保のための的確に助言や指導をしてまいりたい。

---

枝肉: 獣畜をと畜解体し、頭部・肢端・内臓・皮・尾等を取り除いたもの。通常は背骨を中心に  
して左右に分割した骨付き肉のことをいい、食肉市場においては、枝肉の状態  
でせりが行われる。

指導目標値: 厚生労働省通知「と畜場における枝肉の微生物汚染実態調査等結果」により、  
概ね 50%のと畜場が達成している菌数を独自の目標値とした。

と体: 獣畜をとさつしたものであって枝肉以外のものをいう。

【参考】



拭き取り検査工程

- ① 剥皮前
- ② 剥皮後(皮剥き機)
- ③ 自動洗浄後

### 3. 当所の迅速病理診断手法と全国食肉衛生検査所協議会

#### 病理研修会症例集検索システムを用いた検索が

#### 確定診断に有効であった仔牛胎児性癌の 1 症例

#### 1. はじめに

と畜検査した黒毛和種の仔牛症例で病理組織学および免疫組織化学検査の結果、胎児性癌と病理診断した 1 例に遭遇した。本疾病は当所での初発例であり他所での報告例も極めて僅かな希少例であったが、当所で日常的に行っている凍結切片を用いた迅速病理診断と全国食肉衛生検査所協議会病理研修会症例集検索システム（以下、検索システムと略）で蓄積されている貴重なデータによる症例検索が有効であり、と畜場における希少例病理診断の参考ケースであるためその概要を報告する（全国食肉衛生検査所協議会病理部会第 74 回研修会に演題発表）。

#### 2. 材料及び方法

##### (1) 材料

当該症例は本市ミートプラントに健康畜として搬入された 3 か月齢（91 日齢）、黒毛和種、去勢の仔牛である。と畜検査時に得られた腹腔内の多発性硬結性小型腫瘤形成部を主とする主要臓器、主要体表リンパ節および一部付属リンパ節を材料とした。

##### (2) 方法

まず、得られた材料の一部腫瘤についてスタンプ細胞診 Mei-Grunwald-Giemsa 染色標本（以下 MG 染色標本）を作製した。同時にスタンプ細胞診に用いた組織片からクリオスタット凍結切片を作製後（方法の詳細は平成 28 年度食肉及び食鳥肉衛生技術研修並びに研究発表会資料参照）迅速 HE 標本と迅速免疫組織化学検査である抗 Keratin/CytokeratinAE1/AE3（以下、抗 Keratin/Cytokeratin は CK と略）、抗 CK7、抗 Vimentin 標本を作製した。次に、前述の標本を速やかに顕微鏡下で観察後、特徴的病変を病理組織学的に把握し、上述の検索システムで類似症例の検索を行った。以上の作業により得られた情報を参考にしながら、得られた病理検査材料は 10% 中性緩衝ホルマリンで十分固定後パラフィンブロックを作製し、全ての標本に HE 染色を施し、必要に応じて PAS 染色、AZAN 染色、コロイド鉄染色と同ヒアルロニターゼ消化試験を行った。更に選定した腫瘍組織は抗 CKAE1/AE3、抗 CK7、抗 Vimentin、抗  $\alpha$ -フエトプロテイン（以下、抗 AFP と略。コントロールは牛胎児肝臓を使用）、抗胎盤性アルカリフ

オスファターゼ(以下、抗 PLAP と略。製品は Thermo Fisher 製 PA1-29125、コントロールは牛妊娠末期胎盤を使用)を用いた免疫組織化学検査を行った。

### 3. 成 績

#### (1) 肉眼所見

内臓摘出時、左右腹膜、腹腔内臓器および器官の表面と横隔膜臓側面の各全域に暗赤色～淡褐色腫瘍の多発を認めた。大きさは粟粒大～小指頭大と比較的小型、表面上は血様粘液ないし液状物を付着していた。尚、腹水の増量所見は確認不備であった。この他、肺漿膜面に小指頭大腫瘍を少数散見し、内腸骨リンパ節の断面に小結節形成が見られた。

#### (2) 病理組織及び免疫組織化学所見

腹腔全域に見られた腫瘍組織では、MG 標本で異型な上皮様細胞の出現を認め、多核や核分裂像、核の粉碎状断片化像や核クロマチン凝集像、細胞質内には分泌様物の存在を観察した。迅速病理標本では腫瘍細胞の小集簇像ないし充実性増殖像を観察し、本腫瘍組織に特徴的と思われた腫瘍組織内間質における骨形成像を散見した。腫瘍細胞は迅速免染上、抗 CKAE1/AE3 および抗 CK7 陽性、抗 Vimentin 陰性の癌腫性所見を呈した。以下、通常のパラフィン標本所見である。腫瘍細胞の形態は扁平～立方状を呈する極めて多型且つ大小不同な上皮様であり、核分裂や核濃縮像などの異形成を頻繁に認めた、細胞質はエオジンに濃染性で、PAS 陽性およびコロイド鉄陽性(ヒアルロニターゼ消化性)物質の存在を確認した。腫瘍細胞の集簇部位では上皮様細胞による管腔形成、血管新生、脂肪様細胞集簇による網状構造形成、壊死部の形成を特徴的に認め、特に壊死部の腫瘍細胞質内には好酸性小体 hyaline globule の存在が観察された。また、AZAN 染色標本では腫瘍組織内に介在する間質結合織での骨形成像がより観察容易であった。腫瘍細胞の免疫組織化学的性状は、抗 CKAE1/AE3 および抗 CK7 陽性、抗 Vimentin 陰性所見は凍結切片およびパラフィン切片で同様所見を呈した。パラフィン切片で追加検査した腫瘍部の抗 AFP および抗 PLAP は、抗 AFP では優位な陽性所見(上皮様細胞の管腔形成部では陰性を示した)、抗 PLAP は全域で陽性となった。

#### (3) 検索システムによる検索結果

全国食肉衛生検査所協議会病理研修会第 56 回 No.2035 の症例がヒットした。

### 4. 考 察

本症例はと畜検査時に腹腔内全域における播種性腫瘍形成の肉眼所見より、第一に中皮腫を疑った。しかし、中皮腫の病理発生には長期間を要すること、牛の中皮腫発症例は我々の経験上比較的高年齢個体で発見しているが本症例は 3 か月齢の幼若齢であり発症年齢に差を認めること、生後 3 か月齢にも関わらず病変の程度と分布が重度且つ広範囲に及んでいること、更に迅速病理診断による腫瘍組織内の骨形成は著者の知りえる限り中皮腫では見られない病

理組織所見であり、中皮腫を除外し胎児期で発生する腫瘍性疾患を予測しての病理検査が可能となった事は、当所で日常的に行っている迅速診断標本の作製が、と畜検査業務に併行して行われる病理精密検査に有効な手法であると考えられた。

本症例の原発巣については精巣を疑うが、患畜は去勢の仔牛であり検索材料として不備なため今回言及は不可能であるが、精巣由来の胎児期発生腫瘍すなわち胚細胞腫瘍の病理診断については過去に経験は無く、文献検索での類似症例数も少なく[1]比較検討で苦慮した。精巣原発の胚細胞腫瘍は数種知られており[3]、ヒトでの発生頻度は卵黄囊腫瘍が多いとされる[5]。今回の症例は、過去に報告されている仔牛精巣原発の卵黄囊腫瘍例[4]の様に腫瘍組織での肉眼的嚢胞形成が見られず、病理組織上でも検索システムでヒットした 2 例同様、卵黄囊腫瘍の症例 50%程度に見られるシーラ・デュバル小体(Schiller-Duval Body)の出現は伴っておらず、先にも記載した病理組織形態および腫瘍細胞の免疫組織化学的性状から、組織診断名を牛の胎児性癌、疾病診断名を胎児性癌とした。検索システムにより希少な 2 症例がヒットし、得られた情報と本症例のデータを比較検討する事で、特殊染色や免疫 1 次抗体の抗 AFP および抗 PLAP の選択に繋がりにくく、無確定診断が可能であった。尚、抗 AFP および抗 PLAP の陽性所見はヒトの文献に記載された胚細胞腫瘍は単独発症が少なく、2~3 種の重複発症が通常との興味深い知見に触れ[2]、本症例が胎児性癌と卵黄囊腫瘍の混在を示唆するものではないかと考察された。今後、希少な同様症例の発生に注視し、データを収集還元できれば幸いと考える。

[1]海老原成光:全国食肉衛生検査所協議会病理部会研修会(第 56 回)における事例報告(Ⅱ),  
日獣会誌,63,463-466(2010)

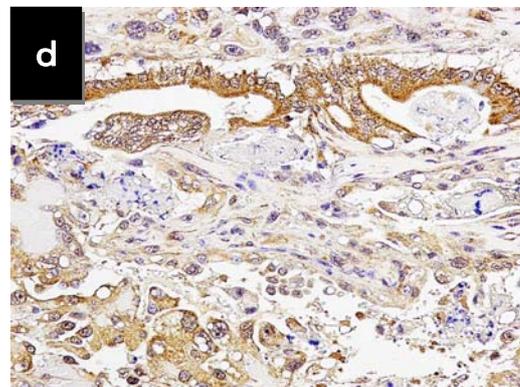
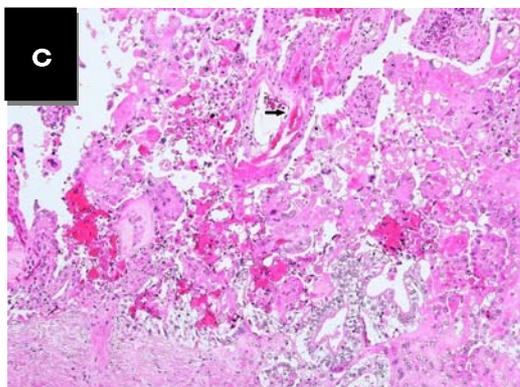
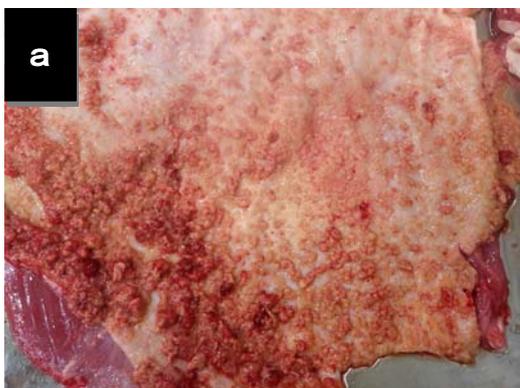
[2]鐵原拓雄、広川満良:精巣に発生した複合型胚細胞腫瘍の 1 例,J.Jpn.Soc.Clin.Cytol.  
38(1),76-79(1999)

[3]小池盛雄:組織病理アトラス第 5 版,文光堂,東京,255-259(2005)

[4]Hiromi Sasaki,Takashi Comiyama:Perforating abomasal ulcer caused by yolk sac tumor in a  
Holstein calf,J. Vet.Diagnostic Investigation,24(4),804-806(2012)

[5]三上修、森博明:小児精巣卵黄囊腫瘍の 2 例 泌尿器要 38 巻,4 号 469-473(1992)  
:腹腔内臓器および器官の表面に播種性腫瘍形成を認めた。

5. 写 真



- a 左腹膜播種性腫瘍 : 腹膜全域に小型腫瘍の播種を認めた。
- b 腹腔内播種性腫瘍 : 腹腔内臓器および器官の表面に播種性腫瘍形成を認めた。
- c 腫瘍部 HE(80倍) : 腫瘍組織の全貌と腫瘍組織内骨形成像(矢印先)。
- d 腫瘍部 胎盤性アルカリフォスファターゼ(200倍) : 腫瘍細胞 PLAP 陽性像。