

3) と畜データの時系列分析簡便化への取り組み

北海道東藻琴食肉衛生検査所 ○足立 泰基

酪農学園大学 蒔田 浩平

【背景と目的】食検では、衛生的な食肉生産を推進するために、生産者にデータ還元するとともに、新たなデータ処理方法を検討している。これまでの検討で、と畜データの時系列分析により、生産現場における感染症のアウトブレイクを推定できることがわかったが、手順が煩雑であった。本研究の目的は、毎月のデータ還元を利用可能な簡便な時系列分析方法の開発である。

【方法】当食検管轄と畜場における2003年4月～2013年10月の月次と畜データを使用した。統計処理ソフトウェアであるR(Ver.3.0.2)のForecast Packageに含まれるauto.arima()関数を使用して、2004年4月～2013年11月の各月の廃棄数および80%信頼区間を予測した。当モデルおよび予測前月までの平均値と標準偏差から予測を行う対照モデルの双方について逸脱度を計算し、その差について χ^2 検定を実施した。さらに、寄生虫性肝炎による廃棄の多いある農場について信頼区間と実際の廃棄数の関係および駆虫剤利用による有病率変化を調べた。

【結果】auto.arima()関数による予測の逸脱度は、対照モデルによる予測の逸脱度より有意に当てはまりがよい($p < 0.05$)ことがわかった。また、寄生虫性肝炎による廃棄数の増加から薬物投与による収束までの期間において、廃棄数観測数が信頼区間外へ逸脱する場合は認められた。

【結論】信頼区間外への逸脱を疾病増加の警告や薬物の効果を示すシグナルと捉えることにより、薬物投与等の判断やその効果の確認に本モデルが利用可能と考えられた。

第 9 章 調査研究

枝肉拭き取り検査における EIA キットとリアルタイム PCR の比較検討

発表者氏名：○伊藤直人、山奈津子、結城恵美

発表者所属：北海道東藻琴食肉衛生検査所

はじめに：食肉の安全を確保する上で、とさつ、解体時における微生物汚染を防止することは重要である。中でも腸管出血性大腸菌 0157 (O157) は、健康牛の消化管内に約 3 割保菌していると言われ、時に人に重篤な症状を引き起こすため、枝肉への汚染には特に注意を要する。当所では、枝肉の汚染を検証するため拭き取り検査を実施しており、北海道の公定法に基づき酵素免疫法 (EIA キット：シングルパス 0157) によるスクリーニングを実施し、陽性となった検体を培養して、生化学性状やリアルタイム PCR (qPCR) で菌の同定を行い最終的な判定を行っている。

EIA キットは操作が簡便で短時間で結果を得られるためスクリーニングとして有用であるが、食品中の 0157 を検出することを目的としたキットであり、枝肉の拭き取り検体での有効性については検証されていない。そこで、今回、EIA キットの枝肉の拭き取り検査における有効性を確認するため、0157 株及び 0157 の偽陽性として近年問題となっている *Citrobacter freundii* (C. f) を用い実験を行ったので報告する。

材料及び方法：材料は当所の拭き取り検査で分離同定された 0157 株、及び C. f 株を用いた。方法は、ノボビオシン加 mTSB 培地で 35°C 22 時間培養し、その培養菌液を段階希釈、EIA キットに反応させ、バンドの有無で陽性、陰性を判定した。また、同時に培養菌液の菌数を測定した。さらに同じ菌液を用い VT1、VT2 遺伝子を標的とした qPCR を行った。

結果：EIA キットでは、0157 では 10^5 CFU/ml 以上で陽性となり C. f でも 10^5 CFU/ml 以上で陽性となった。また、qPCR においては 0157 では 10^1 CFU/ml 以上で VT 遺伝子陽性となるが、C. f においては培養菌液原液 (10^8 CFU/ml) を用いても VT 遺伝子は検出されなかった。

考察：EIA キットでは、0157 と C. f には抗原性の交差が見られ、また同程度の感受性であることが示唆され、拭き取り検体中に C. f が存在する場合に検査結果が偽陽性になることが示唆された。一方、qPCR では、0157 は高い感度で検出でき、また C. f を陽性と判定することなく特異性も高いことが示された。食品の検査では、昨年厚生労働省から qPCR をスクリーニングに用いるよう検査法の改正が通知されたことから、枝肉拭き取り検査においても同様の手順への変更を検討が必要であると考えられた。

豚の呼吸器に認められた腫瘍

発表者氏名：○山奈津子、大西綾衣、結城恵美

発表者所属：北海道東藻琴食肉衛生検査所

はじめに：一般的に腫瘍細胞の多形性は悪性腫瘍の特徴であるが、軟部腫瘍は組織像が極めて多彩であり、悪性腫瘍のみならず良性腫瘍にも顕著な多形性を示すものがあるため、確定診断に苦慮するものが多い。診断には肉眼所見及び組織像に加えて動物種、年齢や発生部位も重要な判断材料となるが、家畜の呼吸器での粘液を産生する腫瘍の報告例は少ない。今回、豚の呼吸器にて粘液を産生する腫瘍を得、病理組織学的検索を進めているので報告する。

材料及び方法：症例は、平成24年8月13日に搬入された交雑種6カ月齢肥育豚で、健康畜として搬入され、生体検査では特に異常は認められなかったが、内臓検査時に肺縦隔部の半分に渡って腫瘍が認められたため、全身の腫瘍を疑い保留とし、病理組織学的検索を行った。病変部の帯黄白色部、灰白色部、髓様部を採材し、10%中性緩衝ホルマリン液で固定後、常法によりパラフィン切片を作成した。切片はヘマトキシリン・エオシン(HE)染色およびアルシアンブルーPAS重染色を施した。

肉眼所見：腫瘍は肺縦隔の全長約3分の2に渡り、肺に覆いかぶさるように広がっていた。腫瘍は直径7から5cmの類円形で、扁平卵円形から円形を呈する複数の腫瘍から成っていた。腫瘍の表面は平滑で光沢があり、線維性の薄い被膜にて被われていた。滑面は灰白色から帯黄白色あるいは髓様を呈しており、充実性で、ところどころに軟骨様硬固物を認め、全体的にぬるぬるした粘液様付着物を認めた。

組織学的所見：腫瘍内には細長い曲線状血管が目立ち、アルシアンブルー陽性の粘液基質に多形性を有する紡錘状および線状の細胞、ときに星芒状の細胞、細胞質内に複数の空胞を有する偽脂肪芽細胞に似たものを認めた。

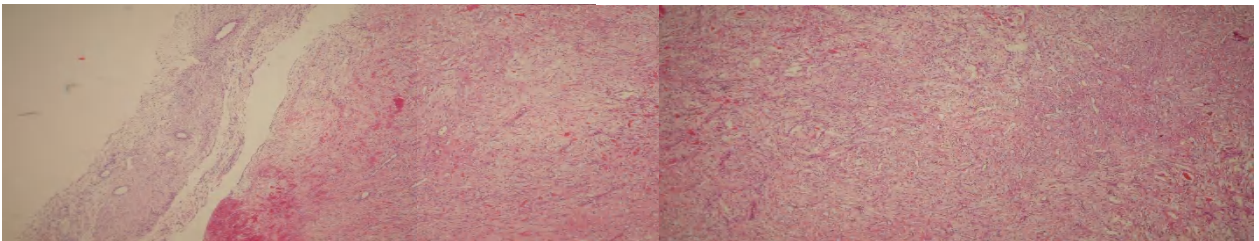
考察：病理組織学的所見から、線維肉腫、平滑筋肉腫、神経鞘腫、脂肪肉腫と類似する像が認められるが、肉眼所見において過剰な粘液の産生が認められること、豊富な粘液基質はアルシアンブルー陽性を示すことから酸性ムコ多糖類の存在が示唆すること、曲状血管を認めることから、本症例を粘液線維肉腫と診断したい。



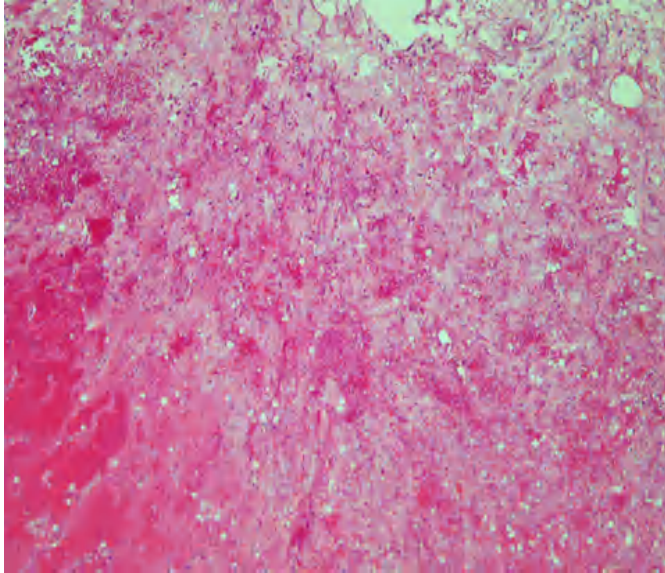
肉眼所見（全体像）



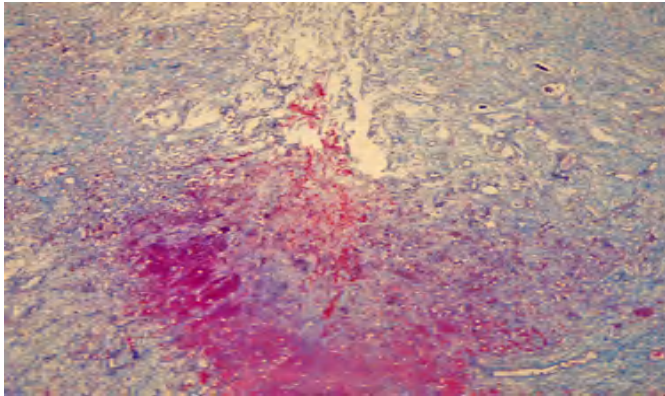
肉眼所見（肺と腫瘍部）



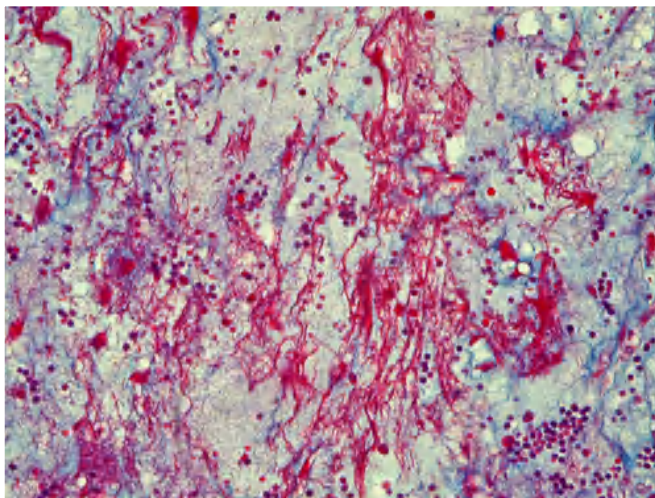
腫瘍部組織所見（HE×40）



腫瘤部組織所見 (HE×200)



腫瘤部組織所見 (AZAN 染色×200)



腫瘤部組織所見 (AZAN 染色×400)

腫瘍形成がみられた特発性好酸球性鼻・副鼻腔炎の牛の一例

発表者氏名：○大野博士、大西綾衣、結城恵美、古岡秀文¹⁾

発表者所属：北海道東藻琴食肉衛生検査所、¹帯広畜産大学・基礎獣医学研究部門

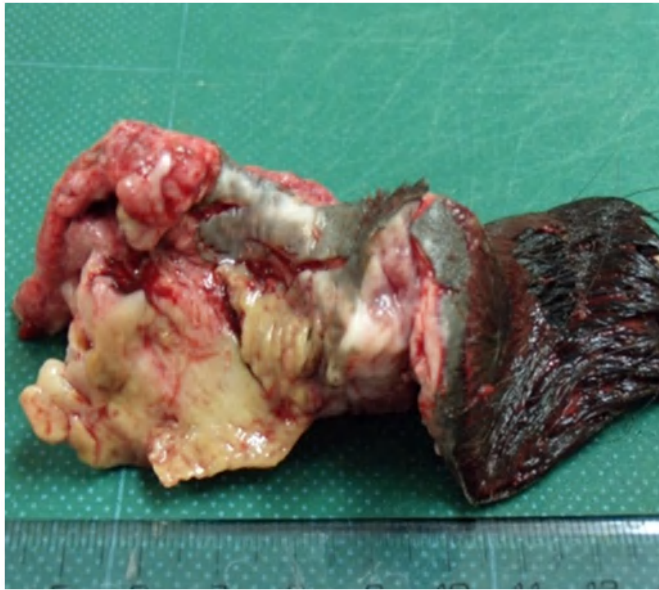
はじめに：食肉の安全性と衛生を確保するためには、疾病の有無や程度を確認する厳格な検査が要求される。平成24年、北海道東藻琴食肉衛生検査所に鼻腔腫瘍の疑いで廃用淘汰された獣畜が搬入され、その病態について病理学的検索を行った。

材料及び方法：症例は牛、黒毛和種、去勢、18ヶ月齢で鼻腔腫瘍が疑われたことで廃用となり、平成24年11月19日に病畜として搬入された。生体検査時は元気消失、消瘦、鼻腔内に腫瘍を数個認めた。他に著変なし。病変部の腫瘍を採材し、10%中性ホルマリン液で固定後、定法によりパラフィン包埋し、4mmで薄切の後、ヘマトキシリンエオシン（HE）染色、Periodic acid-Schiff（PAS）染色及びGrocott染色を施した。

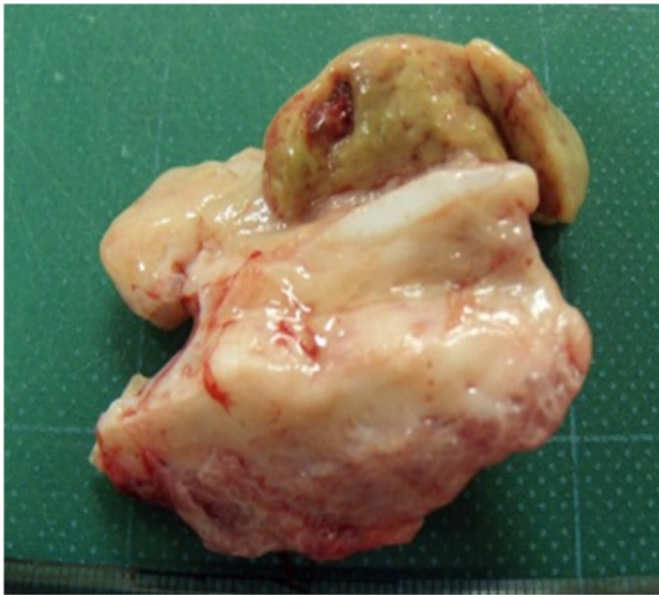
肉眼所見：両外鼻孔に小豆大から大豆大のカリフラワー状褐色腫瘍を数個認めた。鼻骨を剥離すると、腹鼻甲介洞から中鼻甲介洞にかけて黄緑褐色の膿汁が多量に貯留しているのが認められた。また、鼻道全体に鼻粘膜の肥厚を伴う小豆大から大豆大のカリフラワー状黄褐色腫瘍が多数見られ、鼻道は狭窄していた。腫瘍は弾力性があり断面は黄褐色滑沢であった。

組織学的所見：腫瘍部は鼻粘膜上皮から鼻粘膜下組織にかけて好酸球、形質細胞、マクロファージ、繊維芽細胞、好中球の顕著な浸潤が認められた。鼻粘膜間においてGrape cellが観察され、鼻粘膜下組織では肉芽腫性病変像や多核巨細胞の異物食像が認められた。また、PAS染色陰性及びGrocott染色を施したが特徴的な原因体は確認できなかった。

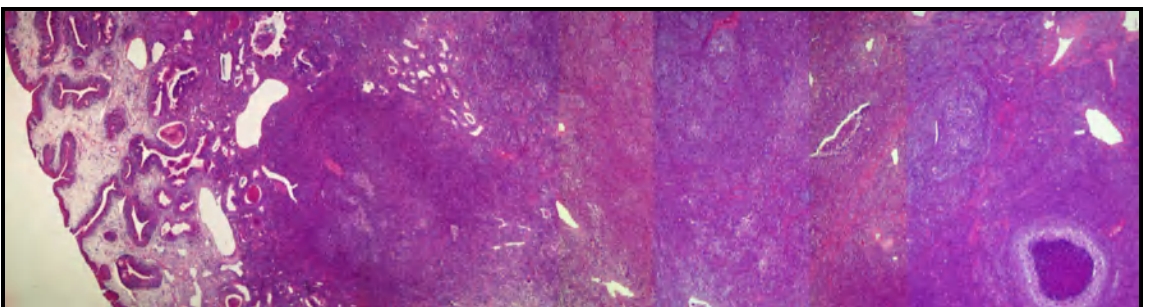
考察：鼻腔内腫瘍は馬や猫に時として認められるが、牛での発生は非常に珍しく、また肉眼的、組織学的な所見より、今回の症例を特発性好酸球性鼻・副鼻腔炎と診断する。また、組織学的所見において鼻粘膜上皮から鼻粘膜下組織にかけて好酸球、形質細胞、マクロファージ、繊維芽細胞が認められたため、アレルギー性疾患の可能性が示唆される。牧草の花粉、真菌、細菌、ウイルスなどが原因として考えられるが、本症例では不明であった。ヒトのアレルギー性真菌性副鼻腔炎では、真菌は副鼻腔の好酸球性ムチンに存在し、副鼻腔粘膜への浸潤を認めないため、腫瘍のみでは誤診の可能性が高いとの報告があることから、今後は鼻腔内粘液の採取も必要であると考えられる。



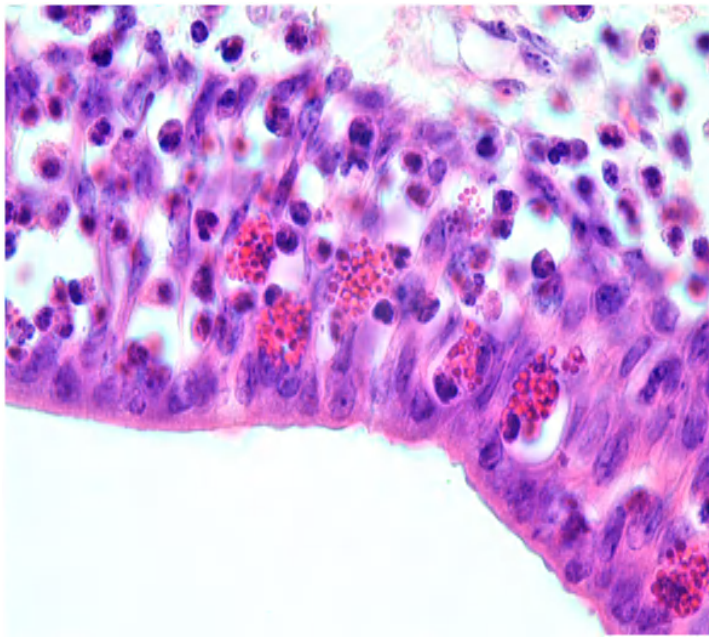
肉眼所見（全体像）



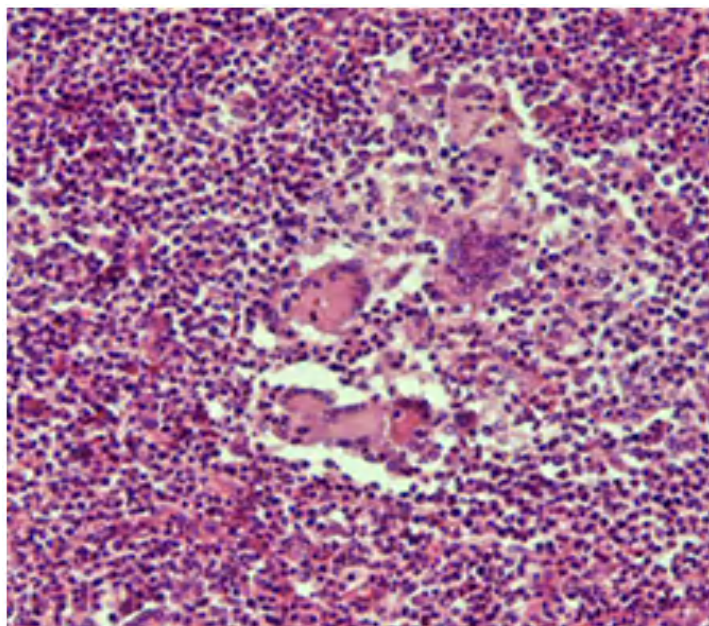
肉眼所見（カリフラワー状褐色腫瘍）



組織所見（腫瘍部、HE×40）



鼻粘膜間における Grape cell (ブドウ房状細胞) 像 (HE×400)



多核巨細胞の異物貪食像 (HE×400)