令和4年度厚生労働科学研究費補助金(食品の安全確保推進研究事業) 「野生鳥獣由来食肉の食中毒発生防止と衛生管理ガイドラインの改良に資する研究」 分担研究報告書

## わが国に分布する旋毛虫 Trichinella T9 の殺滅に有効な加熱条件の検討

分担研究者 杉山 広 (国立感染症研究所寄生動物部) 研究協力者 森嶋康之 (国立感染症研究所寄生動物部) 研究協力者 村上正樹 (国立感染症研究所寄生動物部) 研究協力者 常盤俊大 (日本獣医生命科学大学獣医学部)

研究要旨:わが国で発生した旋毛虫食中毒の原因物質である Trichinella T9 の幼虫に対し、調理の現場を想定した実験系を設定して、 $65^{\circ}$ Cで 15 分間の加熱(厚労省が野生鳥獣の安全な喫食に求める条件)を施し、好適終宿主のマウスに経口摂食させたところ、感染性は消失したことが確認された。

## A. 研究目的

クマ肉を原因とする旋毛虫食中毒の集団事例 が、わが国で最近、短期間のうちに3件発生し た(2016年12月に茨城県、2018年5月および 2019年11月に北海道)。これらの集団食中毒事 例で、原因食品のクマ肉はすべて加熱された後 に喫食されていた。この事実から、本邦に分布 する旋毛虫は、加熱に対してある程度の耐性を 有すると推定された。野生鳥獣肉の安全な喫食 に資する加熱の条件に関し、厚生労働省は「野 生鳥獣肉の衛生管理に関する指針(ガイドライ ン) について」(食安発 1114 第 1 号・2014 年 11月14日) において、中心部の温度を75℃以 上で1分間以上加熱(あるいはそれと同等の条 件、例えば中心部の温度を65℃で15分間加 熱) するように指導している。既に本研究班で 我々は、75℃で1分間(および2分間)の加熱 を、旋毛虫 Trichinella T9 (本邦に分布する日 本固有の旋毛虫) の幼虫に直接的に加えた場 合、マウスへの感染性が完全には消失しないこ ともあると明らかにした。しかしながら、従来 の我々の実験のように、虫体に直接的に加熱す るのではなく、調理の実態に即して筋肉中の虫 体に 75℃で 1 分間の加熱を施し、その条件で加 熱に対する本虫の耐性を確認する必要があると も考えられた。この検討を昨年度に実施したと ころ、マウスへの感染性が完全には消失するこ とが確認された。そこで今期は、調理の現場を 想定した同様の実験系で、65℃・15分間の加熱 により、Trichinella T9 のマウスへの感染性が 完全には消失するかを検討した。

## B. 研究方法

感染材料には、マウス(ddY系,雄)を宿主に 当研究室で実験室内継代している旋毛虫 Trichinella T9 を用いた (1974年に青森県で発 生した本邦初の集団人体感染事例に由来する虫 体)。まず T9 感染マウス 3 匹を剖検し、体幹部 と四肢の筋肉を屠体から分離した(筋肉内に旋 毛虫幼虫の多数寄生を確認)。そして市販の豚肉 (大腿部筋肉) を長さ約8cm、幅約5cm、高さ約 2cm、重さ約80gのブロックに成形し、その内部 に T9 感染マウスの体幹部 (腰部から臀部) の筋 肉約 1g 挟み込んだ。マウス筋肉に接触するよう に豚肉ブロックに温度計測定部を挿入した後、 豚肉ブロックを「たこ糸」で縛り、料理用のビニ ルのラップでくるんだ。このブロックを約 28℃ の水道水(約 3L) が入ったウオーターバスに浸 漬して、ヒーターを 65℃に設定して加熱を開始 し、中心温度が65℃に達した後、さらに15分間 加熱した。加熱処理した豚肉ブロックは、処理後 に速やかにクラッシュアイスを入れた容器に移 して冷却した。そして豚肉ブロックの内部から、 感染マウスの筋肉を取り出し、その筋肉を直接 実験マウスに経口摂食させた(実験群)。さらに 非加熱の T9 感染マウスの体幹部筋肉も、別の実 験マウスに経口摂食させた(陽性対象群)。投与 マウスは経口投与後 69 日 (実験群) および 70 日 (陽性対象群) に剖検し、全身の骨格筋 (横隔膜 および舌を含む)を個体別に細切後(一部は骨格 に付着したまま)、プラスティック容器(500 ミ リリットル)に入れた。これにペプシン塩酸液 (ペプシン、半井化学、1:10,000が1%、および 塩酸が 0.7%、約 200 ミリリットル) を加え、37℃

で 60 分間、振盪消化した。消化された筋肉は、目開きが 300 マイクロメートルの金属メッシュで濾過して骨片などの残渣を取り除いた。濾液はガラス製の円錐型液量計 (1.5 リットル) に集め、1 リットルの生食水を加えて、30 分間静置した。上清を吸引除去し、除去した液量と同量の生食水を加える洗浄操作を 4 回繰り返した(上清は清澄となった)。そして、沈査をプラスティックシャーレ(径 9 cm) に移し、実体顕微鏡下に観察して、総ての幼虫をパスツールピペットで回収した。

回収された幼虫は、全数を 500 ミリリットルの容器 (プラスティック製、蓋付き) に移し、生食水を加えて液量を 200 ミリリットルとした。これをよく撹拌した後、2 ミリリットルをシャーレに移し、実体顕微鏡下にマウスの個体別に、幼虫を計数した。この作業を 4 回繰り返した (2 ミリリットルの幼虫含有液を別途に 4 個調製して、各検体の虫体を計数した)。この結果で得られた平均値を 100 倍して、マウス 1 匹に寄生する全虫体数を算出した。なお上述の人工消化と幼虫回収の術式は、食品衛生検査指針 (日本食品衛生協会、2018) を主な参考資料とした。また加熱のための具体的な手法に関しては、本研究班の令和元年度報告書に記載の方法を踏襲した。

### C. 研究結果

(1) 加熱処理群(群1: 豚肉ブロックに T9 感染マウス筋肉を挟み、65℃で15 分間の加熱)

加熱筋肉を投与したマウス4匹のいずれから も旋毛虫幼虫は検出されなかった(表)。

#### 表. 調理の条件下で加熱処理したT9幼虫の感染試験成績

——群 <sup>a</sup>	肉の処理		動物数		感染期間	——————— 検出虫体数⁵
	温度	時間 (分)	投与	感染	(日)	(陽性個体の1頭 ・平均±SD)
1	65	15	4	0	69	0
2	NH(非加熱)		4	4	70	4,450 ± 2295 (参考値)

<sup>&</sup>lt;sup>®</sup>各群のマウスは4頭(ddY系・雄・5週齢), Trichinella T9幼虫感染マウス の筋肉を調理の条件下で加熱し、あるいは加熱せずに、各群4頭の新た なマウスに経口摂食させた.

(2) 非加熱処理群(群2:陽性対照群) 旋毛虫幼虫が検出された。検出虫体数は1匹

平均にすると 4,450 隻であった (表)。

### D. 考察

「野生鳥獣肉の衛生管理に関する指針(ガイ

ドライン)について」(食安発 1114 第 1 号・2014年 11月 14日)において指示された「中心部の温度を 75℃以上で 1分間以上加熱する」という条件で、旋毛虫による食中毒を予防できるかを、昨年度に実験して証明した。ただし 75℃で 1分間の加熱を施すと、豚肉ブロックの中心部分が、65℃ (以上)の温度で 20分間、加熱されることが分かった。このため、65℃で 15分間の加熱は、75℃で 1分間の加熱と同等に、旋毛虫の殺滅に有効と規定されているが、実際に 65℃で 15分間だけの加熱で、旋毛虫の幼虫が完全に殺滅されるのかは、改めて検証する必要があるとの考えに至った。これが今回の検討を行った理由である。

そこで調理の現場を想定した実験系を用いて、 肉の中心温度を 65℃で 15 分間加熱した。その結 果、筋肉内の旋毛虫 T9 の幼虫は殺滅され、この 条件での加熱により、感染予防できると確認さ れた。

本検討の結果、「野生鳥獣肉の衛生管理に関する指針(ガイドライン)について」(食安発 1114 第 1 号・2014 年 11 月 14 日) で指導する「中心部の温度を 75℃以上で 1 分間以上加熱する」という条件だけでなく、同等の加熱条件でも、旋毛虫による食中毒の予防は確実になることが示された。

#### E. 結論

わが国で発生したクマ肉喫食による旋毛虫食中毒の病因物質 Trichinella T9 を、調理の現場を想定した実験系を用いて 65℃で 15 分間加熱したところ、マウスへの感染性が完全に消失することが検証された。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

- 1. 論文発表なし
- 2. 学会発表なし

# H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得 なし

# 2. 実用新案登録なし

b 投与後約70日に剖検、全身をペプシン塩酸液で人工消化し虫体検出