

-背景-

近年、野生鳥獣による農作物への被害が深刻化してきている。そのため「鳥獣の保護及び狩猟の適正化に関する法律」が改正され、捕獲した野生鳥獣の食用としての利活用が可能となった。しかし、猪や鹿などの野生鳥獣は、食中毒危害物質を有している可能性が高いにもかかわらず、と殺時の病気の有無等の検査が義務づけられていないため、これらの動物由来の肉の食品衛生上の安全は担保されていない。

馬肉において、食中毒起因物質となっているサルコシステイス属寄生虫は鹿にも寄生することが知られている。平成27年度に行った我々の調査では、野生鹿肉におけるサルコシステイス属寄生虫感染は77%であった。厚労省のガイドラインでは、寄生虫対策として75℃ 1分以上の加熱を推奨しているが、鹿肉に寄生するサルコシステイス属の保蔵・加工要因に対する感受性に関しては、報告がない。

本研究では、鹿肉の感染率の高いサルコシステイス属寄生虫に着目して、冷蔵冷凍、熱、塩、食品添加物(発色剤)、酸アルカリについての感受性について詳細に検討したので報告する。

-方法-

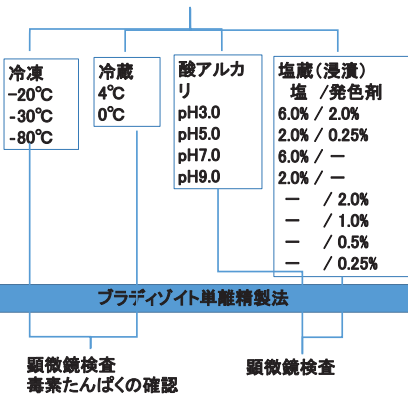
《鹿における Sarcocystis の種類と寄生分布の検討》

山梨県南巨摩群早川町で平成26年10月から平成27年10月の間に捕獲された鹿肉を用いた。鹿肉20検体から顕微鏡により、シスト膜形状の違いを観察し、形態検査を行った。

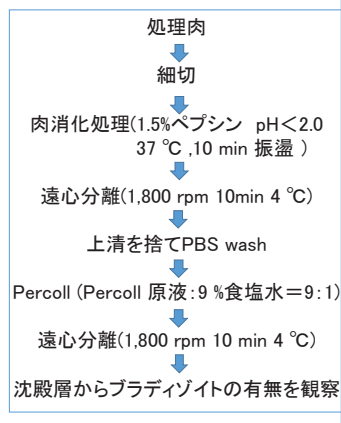
《鹿肉の保蔵・加工要因による死滅時間の検討》

Scheme 1, 2の方法で行い、生死の判定は、顕微鏡でブラディゾイトが観察されたものを生存、されないものを死滅とした。

検体(コース)



Scheme 1 実験項目と手順



Scheme 2 ブラディゾイト単離精製法

《ブラディゾイト耐熱性の検討》

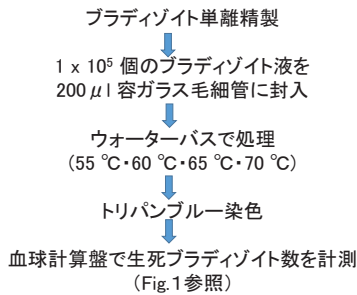


Fig. 1. ブラディゾイト像(トリパンブルー染色)
生存ブラディゾイト(arrow)
死滅ブラディゾイト(arrow head)

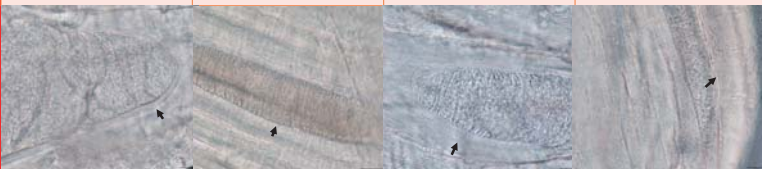
《ウエスタンブロッティング(WB)による残存毒性の検討》

残存毒性の検討はサルコシステイスの下痢原性毒素タンパク質である15kDaタンパク質の有無で行った。WBの条件 ゲル濃度: 15%, 1次抗体: Anti-Sarcocystistin 15 kDa protein anti-rabbit serum (ポリクローナル抗体、若手大学鎌田先生より譲与)、2次抗体: mouse anti-rabbit IgG-HRP (SANTA CRUZ BIOTECHNOLOGY, INC)。サンプルはScheme 1で示した。

-結果 1-

《鹿における Sarcocystis の種類と寄生分布》

S. sybillensis	S. wapiti	S. hofmanni	Others
30.5%	63.7%	1.0%	4.8%



矢印は種の同定に用いるシスト壁を指す

サルコシステイスの寄生率は S. wapiti > S. sybillensis > others > S. hofmanni であった。

-結果 2-

《鹿肉の保蔵・加工要因による死滅時間の検討》

Table 1. 冷蔵保蔵による死滅時間

冷蔵時間	1 day	3 days	5 days	7 days
4 °C	+*1	+	+	+
0 °C	+	+	+	+

*1 + : 生存
(-) : 死滅

冷蔵条件においては1週間以上の生存が確認された。

Table 2. 冷凍保蔵による死滅時間

冷凍時間	1 h	2 h	5 h	6 h
-20 °C	NT*2	(-)	NT	NT
-30 °C	(-)	NT	NT	NT
-80 °C	(-)	NT	NT	NT

*2 NT : 測定せず

冷凍条件においては2時間ですべてのサンプルにおいて死滅が確認された。

Table 3. 酸・アルカリ処理による死滅時間

処理時間	1day	3days	5days	7days
pH3.0	(-)*1	NT*2	NT	NT
pH5.0	+	+	+	+
pH7.0	+	+	+	+
pH9.0	(-)	NT	NT	NT

pH5.0及びpH7.0においては1週間以上の生存が確認されたが、酸性及びアルカリ性に大きく寄ったpH3.0及びpH9.0においては1日以内の死滅が確認された。

Table 4. 塩・発色剤 処理による死滅時間

塩濃度	発色剤濃度	処理時間			
		1day	3days	5days	7days
6.0%	2.0%	(-)*1	NT*2	NT	NT
2.0%	0.25%	(-)	NT	NT	NT
6.0%	-	(-)	NT	NT	NT
2.0%	-	(-)	NT	NT	NT
-	2.0%	(-)	NT	NT	NT
-	1.0%	+	+	+	+
-	0.5%	+	+	+	+
-	0.25%	+	+	+	+

食塩で処理をした検体では発色剤の有無にかかわらず、1日以内での死滅が確認された。発色剤のみを用いた検体では2.0%では1日以内で死滅したが、それより低い濃度では1週間以上の生存が確認された。

《WBによる下痢原性毒素タンパクの検出》

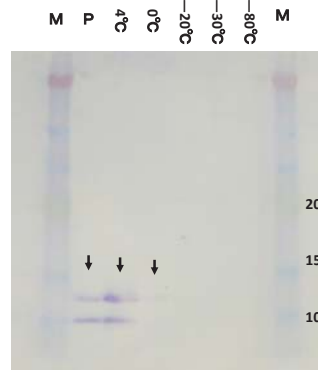


Fig. 2. WB像
M: 分子量マーカー
P: 馬肉から採取したブラディゾイト
↓: 15kDaタンパク質

下痢原性毒素タンパク質が、冷蔵・冷凍処理された肉のペプシン消化後も残存しているかを検討した結果、4°Cおよび0°C条件では毒素が残存しており、食中毒を起こす可能性が高いことが示唆された。毒素タンパクの消失には冷凍が有効である。

《ブラディゾイトの耐熱性試験》

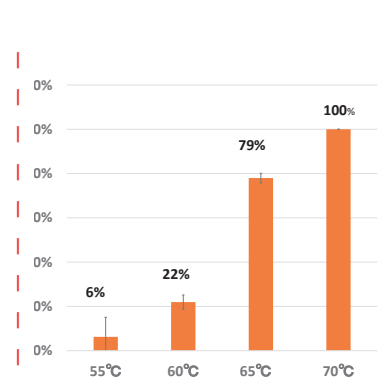


Fig. 3. 熱処理によるブラディゾイトの死滅率 (1分間)

- 1分間加熱で70°Cにおいて100%死滅することが明らかになった。
- 3分間加熱では 60°Cにおいて100%死滅することが明らかになった (Data not shown)。

-まとめ-

- ✓ 4°Cおよび0°C(氷温)では、7日間以上の生存が認められた。-20°C、-30°C、-80°Cの冷凍保存においては、1-2時間以内に死滅が確認された。
- ✓ 加熱条件下の実験では70°Cで1分以上処理することでブラディゾイトが100%の確率で死滅した。
- ✓ ハム・ソーセージ等の前処理における塩蔵・発色剤処理では1日で死滅することが明らかになった。
- ✓ 酸アルカリ処理では強酸およびアルカリでは死滅させる効果があった。

このことから鹿肉内でのサルコシステイス属を死滅させる保蔵・加工要因として-20°C以下の冷凍、70°C 1分以上の加熱およびpH3.0以下およびpH10.0以上の1日以上処理、また塩濃度2.0%以上または発色剤2.0%以上の1日以上処理が有効であった。一方で冷蔵処理およびpH5.0及びpH7.0条件下では1週間以上の生存が確認されたため冷蔵処理のみの保蔵は食中毒に繋がる危険性があることが明らかになった。