

## 令和 4 年度・衛生研究所研究費事業報告

### 乾燥海藻における微生物学的検査法の検討

(計画年度：令和 4 年度)

研究代表者

食品微生物担当

金井美樹

共同研究者

食品微生物担当

藤原茜\* 久保川竣介 八木耕太郎 山崎悠華 島田慎一 土井りえ

副所長兼食品微生物担当検査室長 成澤一美

#### 目的

乾燥海藻は様々な調理品で食材として用いられおり、未加熱で利用されることが多い食品である。これまでに乾燥海藻が原因と考えられる食中毒事例が全国で複数報告されており、食中毒の原因食品となる潜在的なリスクがあると考えられる。埼玉県においても令和 2 年に腸管凝集付着性大腸菌耐熱性毒素遺伝子 (*astA*) を保有する大腸菌 O7:H4 (以下、大腸菌 O7:H4) による食中毒が発生した。本事例の原因究明の中で、乾燥海藻における添加菌の回収率が 20～60%と低く、当所における検査法では乾燥海藻を汚染する細菌が十分に検出されていないことが危惧された。このため、本研究では乾燥海藻における添加菌の低回収率の原因を調査した。また、乾燥海藻を汚染する細菌を適切に検出するための検査法を検討し、市販海藻を用いて新たに構築した検査法により汚染実態調査を行った。

#### 成果概要

乾燥海藻の成分が菌の発育及び検出に与える影響を確認するために、大腸菌陰性であることを確認した市販の乾燥海藻に滅菌蒸留水 (DW) を加え、5 分間水戻しをした後の戻し水、及び生理食塩水を希釈液とし、大腸菌液の菌数を比較した。その結果、生理食塩水と戻し水の菌数は有意差がなく、乾燥海藻の成分が大腸菌の生存や検出に与える影響は少ないと考えられた。

乾燥海藻に添加した大腸菌が海藻表面または海藻組織内部に存在しているかを確認するために、蛍光色素 DAPI 及び CTC で二重染色した大腸菌を乾燥海藻に添加し、静置した後、凍結組織切片を作成して蛍光顕微鏡で観察した。その結果、添加した大腸菌が大量に乾燥海藻の内部へ侵入している可能性は低く、乾燥海藻の表面に付着していると考えられた。

これらのことから乾燥海藻の希釈液を複数の条件で調製し、乾燥海藻に添加した大腸菌の回収率を比較した。次の

①～④のとおり、海藻検体の 50 倍希釈液を調製する工程で大腸菌を添加し、各工程の大腸菌数を比較した。①検体 5 g に菌液を添加し、静置後に DW 250 mL を加えストマッキング。②検体 5 g に DW 250 mL を加え、静置後に菌液を添加しストマッキング。③検体 5 g に菌液を添加し、静置後に DW 100 mL を加えストマッキングし、DW 150 mL を追加し 20 回程度手もみで攪拌。④検体 5 g に DW 100 mL を加え、静置後に菌液を添加しストマッキングした後、DW 150 mL を追加し 20 回程度手もみで攪拌。その結果、方法①に比べ方法②、③及び④の回収率が有意に高かった。これらのことから、菌が懸濁液に十分に遊離した②及び④の状態とするためには、適正な量の懸濁液を用いることが必要であると推察され、この③及び④の 2 段階で 50 倍希釈液を調製する検査法が適切に乾燥海藻の汚染菌を検出できると考えられた。市販海藻を用い、本検査法を検証した結果、いずれも従来法より菌の検出数が多く、適正な検査法であると確認された。また、新たに構築した検査法により、様々な市販海藻における細菌汚染実態調査を行い、その検出状況を確認した。

#### 自己評価

新たに構築した検査法により乾燥海藻を汚染する大腸菌を適切に検出できた。また、確立した検査法により流通している乾燥海藻について汚染実態を調査することができた。

#### 展望

今回使用した大腸菌以外の菌においても、今回確立した検査法が乾燥海藻の定量試験において有効であるか確認したい。また、海藻による食中毒事例発生時の原因食品調査等へ役立てたい。

#### 公表等

第118回日本食品衛生学会 (2022)

\* 現 朝霞保健所