

MC-Media Pad ACplusの AOAC PTM – MicroValバリデーション

○寺村 哉¹、Gail Betts² (JNC株式会社 横浜研究所¹、Campden BRI²)

目的

- 食品の衛生管理や品質管理において、操作が簡便で、発育した微生物が赤色集落を形成するため、容易に一般生菌数の計測が可能なシート状培地としてMC-Media Pad ACplus (MCAC)が開発された。
- MCACでは35°C、48時間培養の通常法に加え、24時間培養の迅速法と、ISO 4833に準拠した30°C、72時間培養法の3種の使用方法が存在する。
- 今回、MCACについてAOAC PTM - MicroVal harmonized validation programに従った48時間培養の通常法および24時間培養の迅速法の評価について報告する。尚、ISO 4833に準拠した30°C、72時間培養法の評価内容については、第45回日本防菌防黴学会にて報告する。

評価方法

●Method comparison test

評価食品は35°C、48時間培養法ではTable 1に示す10種類の食品マトリックスを使用した。評価食品は35°C、24時間迅速法ではTable 2に示す7種類の食品マトリックスを使用した。各食品において3種類(low, medium, high)の菌数レベルの検体をそれぞれ5検体ずつ用いた。参照法には、食品種に応じてUSDA/FSIS MLG 3.02、AOAC OMA 966.23、Standard Methods for the examination of dairy products (SMEDP) Chapter 6を使用した。各方法により得られた菌数の対数値から、各食品で得られた菌数の平均、参照法との差、標準偏差(Sr)を算出した。

MC-Media Pad ACplus



MC-Media Pad ACplusの評価結果

●ACplus 35°C、48時間培養法

各食品でのlow, medium, highそれぞれのレベルにおける、MCACと各食品における参照法間の菌数の平均値(mean log cfu/g)の差は、-0.498~0.439 log cfu/gの範囲にあり、各食品におけるMCACと参照法間での菌数の差は全て0.5log以内であることを認めた。再現性については各食品でのlow, medium, highそれぞれのレベルにおけるMCACでのSrの範囲は0.033~0.373、参照法で0.013~0.300となり、ほぼ同等の値であることを認めた。

●ACplus 35°C、24時間迅速法

各食品でのlow, medium, highそれぞれのレベルにおける、MCACと各食品における参照法間の菌数の平均値(mean log cfu/g)の差は、Fresh parsleyのmediumで0.696、Tuna pateのmediumとhighでそれぞれ-0.550、-1.088と0.5logを超えることを認めたが、それ以外では-0.499~0.283 log cfu/gの範囲にあり、各食品におけるMCACと参照法間での菌数の差は全て0.5log以内であることを認めた。一部MCACと参照法間での菌数の差が0.5logを外れる結果が得られたが、全体としては参照法との明確な差は認めなかった。再現性については各食品でのlow, medium, highそれぞれのレベルにおけるMCACでのSrの範囲は0.023~0.324、参照法で0.013~0.236となり、若干高い値となることを認めた。

まとめ

MC-Media Pad ACplusは、その性能の妥当性が確認できた。本結果および製造後3, 13, 24ヶ月経過後の各ロット間の同等性および保存安定性、接種検体量(0.95-1.05ml)、培養温度(33-37°C)、培養時間(22-51h)に関する頑健性、さらに施設間の同時再現性が確認でき、2017年にMC-Media Pad ACplusの3種の全ての使用方法でAOAC-PTM認証(Cert. No. 091702)を得ることが出来、2018年にISO 4833の代替法としてMicroVal認証(Cert. No. 2015LR52)を得ることが出来た。

Table 1. Summary of method comparison study (ACplus 35°C, 48h method)

Category	Matrix	Reference method	Level	N	Candidate Method		Reference Method		Mean diff. (Can.-Ref.)	95% Confidence Interval	
					Mean	s _r	Mean	S _r		LCL	UCL
Raw meat and poultry	Raw ground pork	USDA/FSIS MLG 3.02	Low	5	2.736	0.233	2.453	0.124	0.283	0.136	0.430
			Med	5	4.688	0.148	4.528	0.187	0.160	0.038	0.282
			High	5	6.544	0.104	6.365	0.133	0.179	0.086	0.271
	Raw chicken breast	USDA/FSIS MLG 3.02	Low	5	3.103	0.171	2.732	0.201	0.372	0.222	0.521
			Med	5	4.803	0.045	4.764	0.057	0.039	-0.005	0.083
			High	5	6.628	0.033	6.342	0.086	0.285	0.207	0.364
Fruit and Vegetables	Fresh parsley	AOAC OMA 966.23	Low	5	3.459	0.163	3.891	0.100	-0.432	-0.563	-0.302
			Med	5	5.270	0.230	5.189	0.236	0.081	-0.215	0.378
			High	5	7.538	0.102	7.099	0.063	0.439	0.360	0.517
	Vegetable juice	AOAC OMA 966.23	Low	5	3.898	0.081	3.843	0.077	0.055	-0.089	0.199
			Med	5	5.392	0.098	5.359	0.050	0.033	-0.099	0.166
			High	5	6.349	0.098	6.331	0.099	0.018	-0.088	0.125
Ready to eat foods	Cooked prawns	AOAC OMA 966.23	Low	5	2.892	0.159	2.908	0.206	-0.016	-0.103	0.072
			Med	5	4.223	0.105	3.965	0.144	0.258	0.041	0.475
			High	5	6.677	0.193	6.598	0.237	0.078	-0.061	0.218
	Tuna pate	AOAC OMA 966.23	Low	5	3.004	0.165	2.909	0.098	0.095	-0.080	0.270
			Med	5	4.328	0.122	4.570	0.231	-0.242	-0.553	0.068
			High	5	5.704	0.059	5.708	0.136	-0.003	-0.143	0.136
Multi component foods	Sandwiches	AOAC OMA 966.23	Low	5	1.761	0.262	1.711	0.300	0.050	-0.375	0.476
			Med	5	5.883	0.250	5.856	0.146	0.027	-0.222	0.274
			High	5	6.513	0.027	6.446	0.104	0.067	-0.055	0.188
	Pasta salad	AOAC OMA 966.23	Low	5	2.236	0.166	2.303	0.013	-0.067	-0.259	0.124
			Med	5	3.961	0.127	4.002	0.128	-0.041	-0.116	0.035
			High	5	6.008	0.050	5.976	0.104	0.031	-0.066	0.128
Dairy products	Yogurt drink	SMEDP Chapter 6	Low	5	2.150	0.229	2.526	0.135	-0.376	-0.627	-0.125
			Med	5	3.669	0.082	3.402	0.094	0.267	0.117	0.416
			High	5	4.042	0.147	4.540	0.238	-0.498	-0.712	-0.285
	Cream cheese	SMEDP Chapter 6	Low	5	2.414	0.099	2.416	0.109	-0.002	-0.203	0.198
			Med	5	3.886	0.277	3.949	0.225	-0.063	-0.249	0.122
			High	5	4.607	0.373	4.754	0.058	-0.147	-0.641	0.346

Table 2. Summary of method comparison study (ACplus 35°C, 24h method)

Category	Matrix	Reference method	Level	N	Candidate Method		Reference Method		Mean diff. (Can.-Ref.)	95% Confidence Interval	
					Mean	s _r	Mean	S _r		LCL	UCL
Raw meat and poultry	Raw ground pork	USDA/FSIS MLG 3.02	Low	5	2.736	0.234	2.453	0.124	0.283	0.134	0.431
			Med	5	4.658	0.190	4.528	0.187	0.130	-0.036	0.296
			High	5	6.532	0.086	6.365	0.133	0.167	0.094	0.239
	Raw chicken breast	USDA/FSIS MLG 3.02	Low	5	3.009	0.282	2.732	0.201	0.278	0.104	0.451
			Med	5	4.782	0.054	4.764	0.057	0.018	-0.039	0.074
			High	5	6.570	0.023	6.342	0.086	0.228	0.125	0.331
Fruit and Vegetables	Fresh parsley	AOAC OMA 966.23	Low	5	3.440	0.160	3.891	0.100	-0.451	-0.583	-0.318
			Med	5	5.885	0.149	5.189	0.236	0.696	0.558	0.833
			High	5	7.211	0.064	7.099	0.063	0.111	0.024	0.198
	Vegetable juice	AOAC OMA 966.23	Low	5	3.887	0.081	3.843	0.077	0.044	-0.102	0.190
			Med	5	5.376	0.092	5.359	0.050	0.017	-0.107	0.141
			High	5	6.331	0.095	6.331	0.099	-0.0004	-0.109	0.108
Ready to eat foods	Tuna pate	AOAC OMA 966.23	Low	5	2.410	0.214	2.909	0.098	-0.499	-0.716	-0.281
			Med	5	4.020	0.123	4.570	0.231	-0.550	-0.852	-0.248
			High	5	4.619	0.055	5.708	0.136	-1.088	-1.238	-0.938
Multi component foods	Pasta salad	AOAC OMA 966.23	Low	5	2.024	0.324	2.303	0.013	-0.279	-0.669	0.111
			Med	5	3.922	0.134	4.002	0.128	-0.080	-0.129	-0.030
			High	5	5.978	0.049	5.976	0.104	0.002	-0.081	0.085
Dairy products	Yogurt drink	SMEDP Chapter 6	Low	5	2.150	0.229	2.526	0.135	-0.376	-0.627	-0.125
			Med	5	3.389	0.047	3.402	0.094	-0.013	-0.115	0.089
			High	5	4.042	0.147	4.540	0.238	-0.498	-0.712	-0.284