

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

○寺村 哉<sup>1</sup>、小椋 彩<sup>1</sup>、岩崎 美穂子<sup>1</sup>、Gail Betts<sup>2</sup> (1)JNC株式会社 横浜研究所、<sup>2</sup>Campden BRI)

## 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 RI - MicroVal harmonized validation programに従った35°C、48時間培養の通常法とISO 4833に準拠した30°C、72時間培養法の評価について報告する。

## 評価方法

### ●Method comparison test

評価食品は各Tableに示す10種類の食品マトリックスを使用し、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。MCAC48時間培養法の参照法には、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。ISO 4833に準拠した30°C、72時間培養法の参照法には全ての食品でISO 4833:2013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、MCACと各食品における参照法で全て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 ISO 4833に準拠した30°C、72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、-0.453~0.284 log cfu/gの範囲にあり、MCACと各食品における参照法で全て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0.034~0.385、参照法で0.037~0.437となり、ほぼ同等の値であることを認めた。

## 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 <sub>r</sub> | Mean             | s <sub>r</sub> |                        | 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 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 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 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 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 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 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 30°C, 72h method)

| Category              | Matrix             | Reference method | Level | N | Candidate Method |                | Reference Method |                | Mean diff. (Can.-Ref.) | 95% Confidence Interval |        |
|-----------------------|--------------------|------------------|-------|---|------------------|----------------|------------------|----------------|------------------------|-------------------------|--------|
|                       |                    |                  |       |   | Mean             | s <sub>r</sub> | Mean             | s <sub>r</sub> |                        | LCL                     | UCL    |
| Raw meat and poultry  | Raw ground pork    | ISO 4833-1: 2013 | Low   | 5 | 4.284            | 0.092          | 4.425            | 0.201          | -0.141                 | -0.423                  | 0.142  |
|                       |                    |                  | Med   | 5 | 7.210            | 0.267          | 7.090            | 0.176          | 0.121                  | -0.024                  | 0.266  |
|                       |                    |                  | High  | 5 | 9.439            | 0.258          | 9.205            | 0.160          | 0.235                  | -0.274                  | 0.743  |
|                       | Raw chicken breast | ISO 4833-1: 2013 | Low   | 5 | 4.230            | 0.187          | 4.125            | 0.150          | 0.105                  | -0.044                  | 0.255  |
|                       |                    |                  | Med   | 5 | 7.303            | 0.077          | 7.131            | 0.257          | 0.173                  | -0.120                  | 0.466  |
|                       |                    |                  | High  | 5 | 9.020            | 0.134          | 8.967            | 0.150          | 0.053                  | -0.016                  | 0.123  |
| Fruit and Vegetables  | Fresh parsley      | ISO 4833-1: 2013 | Low   | 5 | 4.054            | 0.131          | 3.880            | 0.344          | 0.174                  | -0.099                  | 0.448  |
|                       |                    |                  | Med   | 5 | 6.994            | 0.230          | 6.710            | 0.195          | 0.284                  | -0.116                  | 0.684  |
|                       |                    |                  | High  | 5 | 9.404            | 0.091          | 9.399            | 0.098          | 0.005                  | -0.080                  | 0.090  |
|                       | Vegetable juice    | ISO 4833-1: 2013 | Low   | 5 | 4.054            | 0.131          | 3.880            | 0.344          | 0.174                  | -0.099                  | 0.448  |
|                       |                    |                  | Med   | 5 | 5.256            | 0.035          | 5.143            | 0.046          | 0.113                  | 0.056                   | 0.171  |
|                       |                    |                  | High  | 5 | 7.227            | 0.121          | 7.195            | 0.135          | 0.031                  | -0.039                  | 0.102  |
| Ready to eat foods    | Cooked prawns      | ISO 4833-1: 2013 | Low   | 5 | 4.284            | 0.105          | 4.106            | 0.087          | 0.177                  | 0.095                   | 0.259  |
|                       |                    |                  | Med   | 5 | 5.420            | 0.094          | 5.389            | 0.097          | 0.031                  | -0.072                  | 0.133  |
|                       |                    |                  | High  | 5 | 7.037            | 0.125          | 6.909            | 0.035          | 0.128                  | -0.059                  | 0.316  |
|                       | Tuna pate          | ISO 4833-1: 2013 | Low   | 5 | 3.998            | 0.183          | 3.738            | 0.037          | 0.259                  | 0.037                   | 0.482  |
|                       |                    |                  | Med   | 5 | 4.476            | 0.100          | 4.356            | 0.149          | 0.121                  | 0.004                   | 0.238  |
|                       |                    |                  | High  | 5 | 8.083            | 0.182          | 8.388            | 0.129          | -0.305                 | -0.662                  | 0.053  |
| Multi component foods | Sandwiches         | ISO 4833-1: 2013 | Low   | 5 | 2.526            | 0.105          | 2.304            | 0.179          | 0.222                  | -0.049                  | 0.493  |
|                       |                    |                  | Med   | 5 | 5.703            | 0.034          | 5.648            | 0.138          | 0.055                  | -0.089                  | 0.201  |
|                       |                    |                  | High  | 5 | 6.450            | 0.149          | 6.338            | 0.071          | 0.112                  | -0.138                  | 0.362  |
|                       | Pasta salad        | ISO 4833-1: 2013 | Low   | 5 | 2.653            | 0.080          | 2.908            | 0.109          | -0.256                 | -0.342                  | -0.169 |
|                       |                    |                  | Med   | 5 | 5.359            | 0.385          | 5.538            | 0.331          | -0.178                 | -0.281                  | -0.075 |
|                       |                    |                  | High  | 5 | 7.705            | 0.129          | 7.755            | 0.077          | -0.050                 | -0.185                  | 0.084  |
| Dairy products        | Yogurt drink       | ISO 4833-1: 2013 | Low   | 5 | 3.931            | 0.037          | 3.909            | 0.052          | 0.022                  | -0.052                  | 0.096  |
|                       |                    |                  | Med   | 5 | 6.201            | 0.090          | 6.654            | 0.094          | -0.453                 | -0.676                  | -0.229 |
|                       |                    |                  | High  | 5 | 8.598            | 0.079          | 8.348            | 0.109          | 0.249                  | 0.027                   | 0.472  |
|                       | Cream cheese       | ISO 4833-1: 2013 | Low   | 5 | 2.856            | 0.357          | 2.885            | 0.437          | -0.029                 | -0.180                  | 0.122  |
|                       |                    |                  | Med   | 5 | 4.317            | 0.101          | 4.276            | 0.050          | 0.041                  | -0.039                  | 0.120  |
|                       |                    |                  | High  | 5 | 7.567            | 0.378          | 7.793            | 0.062          | -0.226                 | -0.707                  | 0.255  |