

## *E.coli*/大腸菌群数計測用シート培地 MC-Media Pad EC の評価

寺村 哉、小椋 彩、藤原 翠、曾田 浩二郎、岩崎 美穂子

(JNC 株式会社 横浜研究所)

### 【目的】

食品の衛生管理や品質管理において、手軽に *E.coli*/大腸菌群数を計測できるシート状培地として「サニ太くん *E.coli*/大腸菌群用」が開発された。しかし、「サニ太くん *E.coli*/大腸菌群用」では一部の *E.coli* が明瞭な集落を形成しにくい、チーズ等の酵素を含む食品では培地面が着色し計測しづらくなることがあった。今回、酵素による培地着色を低減できるように全面的に改良し、「MC-Media Pad EC」と (MCEC) して開発を行った。今回、MCEC について、純培養菌株および市販食品検体ならびに人工的に *E. coli* で汚染させた食品検体を用いた評価を行ったので報告する。

### 【方法】

純培養菌を用いた評価: 大腸菌群 30 株、大腸菌群以外のグラム陰性菌 12 株、グラム陽性菌株 33 株および酵母 2 株を供試した。供試菌株はヒツジ血液寒天培地で 35°C、24 時間培養後、マクファーランド #1 ( $3 \times 10^8$  cfu/mL) 相当になるように滅菌リン酸緩衝液 (PBS) へ懸濁し、供試菌液とした。各供試菌液は PBS で 10 倍段階希釈し、菌希釈液の 1mL を MCEC 接種した。対照にはペトリフィルム EC (PEC; 3M)、デソキシコレート寒天培地 (Deso; Difco)、VRBA 寒天培地 (VRBA; Difco)、クロモカルトコリフォーム寒天培地 (CCA; Merck)、および標準寒天培地 (Difco) をそれぞれ定法に従い使用した。35°C、24 時間培養後、各培地上の集落性状、発育菌数を確認した。

市販食品検体を用いた大腸菌群数計測の評価: 横浜市内で購入した市販食品 100 検体 (肉類 40、魚介類 30、野菜・果物 30 検体) を用いた。各検体に 9 倍量の滅菌 PBS を加え、90 秒間ストマッキング処理を行い試料原液とした。試料原液は滅菌 PBS で 10 倍段階希釈を繰り返し、各

希釈液を調製した。希釈液の 1mL を MCEC に接種した。対照には、PEC、Deso、VRBA、CCA ならびに MPN 3 本法 (MPN) を使用した。MPN 以外は 35°C、24 時間培養後、大腸菌群数を計測した。MPN は AOAC 966.24 に従い実施し、MPN 値を算出した。

*E.coli* 汚染食品検体を用いた *E.coli* 数計測の評価: 横浜市内で購入した市販食品 100 検体 (肉類 40、魚介類 30、野菜・果物 30 検体) に *E.coli* を  $10^{1-2}$ 、 $10^{2-3}$ 、 $10^{3-4}$  CFU/g になるようにランダムに接種後、3 日間冷蔵保管したものを使用した。検体処理は前述と同様に実施し、対照には PEC、CCA、および MPN を用いた。MPN 以外は 35°C、24 時間培養後、*E.coli* 数を計測した。MPN は AOAC 966.24 に従い実施し、MPN 値を算出した。各方法において得られた菌数をそれぞれ対数に変換し、MCEC の菌数の対数値を y 軸に、対照法での菌数の対数値を x 軸にそれぞれプロット後、相関係数を算出した。

### 【結果および考察】

純培養菌を用いた評価では、MCEC は大腸菌群、*E.coli* を含めた全ての供試菌株について対照法と同等以上の発育・発色・選択性を認めた。

市販食品検体を用いた大腸菌群数計測の評価では、MCEC と各対照法間との相関係数は 0.95 以上であった。また、*E.coli* 汚染食品検体を用いた *E.coli* 数計測の評価でも、MCEC と各対照法間との相関係数は 0.95 以上であった。

以上の結果より、MCEC は食品中の酵素による培地着色を低減しつつも、従来法と高い相関を有するシート状培地であり、自主衛生検査等において有用な手段の一つとなると考えられた。