

E. coli、大腸菌群用簡易培地の MicroVal & AOAC PTM バリデーション

○寺村 哉¹、小椋 彩¹、Linda Everis²、Gail Betts²
(¹JNC 株式会社 横浜研究所、²Campden BRI)

〔目的〕

食品の衛生管理や品質管理において、簡便な操作で *E. coli* ならびに大腸菌群の計測が可能なシート状培地として MC-Media Pad EC (MCEC) が開発された。MCEC では 35°C、24 時間培養後に、*E. coli* は赤紫～藍色、*E. coli* 以外の大腸菌群は青～緑色集落を形成する。今回、MCEC について AOAC PTM - MicroVal harmonized validation program に従い、性能評価を実施したので報告する。

〔方法〕

Inclusivity / exclusivity 試験では、*E. coli* 検出において *E. coli* 50 株、*E. coli* 以外の菌株 32 株、大腸菌群検出において大腸菌群 63 株、大腸菌群以外の菌株 31 株をそれぞれ用い評価した。

Method comparison 試験では、食品マトリックスには pasteurized cream、cream cheese、RTC vegetable mix、vegetable juice、raw ground pork、raw chicken breast、cooked prawn、crab pate、sandwiches、cooked chilled rice の 10 種類の食品をそれぞれ使用し、各食品マトリックスにおいて 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。

各食品は ISO 6887 に従いサンプル処理を行い、試験に供した。参照法として、*E. coli* 計測は ISO 16649、大腸菌群計測は ISO 4832 をそれぞれ使用した。各方法により得られた菌数の対数值から、各食品で得られた菌数の平均、参照法との差、標準偏差(Sr)、相関係数(r^2)を算出した。

〔結果および考察〕

MCEC の性能の妥当性確認を AOAC PTM - MicroVal harmonized validation program に従い評価したところ、Inclusivity / exclusivity 試験では、*E. coli* 検出において、MCEC と ISO 16649 は共に 50 株中 48 株の *E. coli* を検出でき、32 株の *E. coli* 以外の菌株中 30 および 31 株をそれぞれ排除できた。一方、大腸菌群検出において、MCEC と ISO 4832 は 63 株の大腸菌群中 60 および 63 株をそれぞれ検出でき、31 株の大腸菌群以外の菌株中 25 および 24 株をそれぞれ排除できた。

Method comparison 試験では、*E. coli* 計測において、各食品での low、medium、high それぞれの菌数レベルにおける、MCEC 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、-0.025～0.331 log cfu/g の範囲であることを認めた。また、再現性については各菌数レベルにおける MCEC での Sr の範囲は 0.034～0.188、参照法で 0.028～0.181 となり、ほぼ同等の値であることを認めた。さらに ISO 16649-2:2001 法との r^2 は各食品において、0.989～0.996 の範囲であり、全食品を対象としたときの r^2 は 0.993 であることを認めた。

同様に、大腸菌群計測において、各食品での low、medium、high それぞれの菌数レベルにおける、MCEC 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、-0.037～0.372 log cfu/g の範囲であることを認めた。また、再現性については各菌数レベルにおける MCEC での Sr の範囲は 0.047～0.188、参照法で 0.025～0.157 となり、ほぼ同等の値であることを認めた。さらに ISO 4832:2006 法との相関係数 r^2 は各食品において、0.990～0.999 の範囲であり、全食品を対象としたときの r^2 は 0.995 であることを認めた。

以上の結果より、MC-Media Pad EC 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、18 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(22-26h)に関する頑健性、さらに施設間の同時再現性が確認出来、2019 年に AOAC-PTM 認証(Cert. No. 011902)を得ることが出来、ISO 16649 および ISO 4832 の代替法として MicroVal 認証(Cert. No. 2017LR71)を得ることが出来た。