

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)

MC-Media Pad EC (MCEC) とは

- 食品の衛生管理や品質管理のためのシート状培地。
*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。
- 今回、本方法の性能が妥当であるかを確認するために、
AOAC RI - MicroVal harmonized validation programによる性能の妥当性確認を実施した。

MC-Media Pad EC



評価内容

本試験の参照法

*E. coli*計測はISO 16649 (TBX)、大腸菌群計測はISO 4832 (VRBA)をそれぞれ使用。

●Inclusivity / exclusivity tests

*E. coli*検出⇒ *E. coli* 50株、*E. coli*以外の菌株32株をISO 6887に従いそれぞれ供試。

大腸菌群検出⇒ 大腸菌群63株、大腸菌群以外の菌株31株をISO 6887に従いそれぞれ供試。

●Method comparison test

評価食品は各Tableに示す5カテゴリー、10種類の食品マトリックス(5カテゴリー)を使用。

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検体ずつ使用。

検体処理等はISO 6887に従い実施。

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)、相関係数(r^2)を算出。

評価結果

●Inclusivity / exclusivity tests

*E. coli*検出⇒ MCECとISO 16649は共に50株中48株の*E. coli*を検出。

32株の*E. coli*以外の菌株中、MCECでは30株、ISO 16649では31株を排除。

大腸菌群検出⇒ 63株の大腸菌群中、MCECは60株、ISO 4832は63株を検出。

31株の大腸菌群以外の菌株中、MCECは25株、ISO 4832は24株を排除。

●Method comparison test

*E. coli*計測⇒ MCECと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0.5 log cfu/g以下。

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。

参照法との r^2 は各食品において、0.989～0.996の範囲であり、全食品での r^2 は0.993であることを認めた。

大腸菌群計測⇒ MCECと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0.5 log cfu/g以下。

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。

参照法との r^2 は各食品において、0.990～0.999の範囲であり、全食品での r^2 は0.995であることを認めた。

まとめ

MC-Media Pad ECは、メソッドバリデーションの結果、その性能の妥当性が確認できた。

また、製造後18ヶ月間の保存安定性、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、施設間の同時再現性が確認できた。

⇒ AOAC-PTM認証(Cert. No. 011902)、ISO 16649およびISO 4833の代替法としてMicroVal認証(Cert. No. 2017LR71)を取得し、第三者認証を有する検査キットとなった。

Table 1. Statistical relationship between the MC-Media Pad EC method and ISO 16649-2:2001 (*E. coli*)

Category	Matrix	Regression equation	Determination coefficient (r^2)	Range of difference of mean LogCFU/g (Can-Ref)	Range of Sr	
					MCEC	ISO 16649
Dairy products	Pasteurized single cream	$y = 1.06x - 0.15$	0.991	0.019 - 0.214	0.042 - 0.188	0.055 - 0.177
	Cream cheese	$y = 1.05x - 0.03$	0.996	0.076 - 0.243	0.034 - 0.088	0.049 - 0.151
Fruits and vegetables	RTC vegetable mix	$y = 1.02x - 0.03$	0.995	0.004 - 0.095	0.038 - 0.089	0.061 - 0.115
	Vegetable juice	$y = 1.03x + 0.02$	0.996	0.097 - 0.204	0.084 - 0.157	0.028 - 0.103
Raw poultry and meats	Raw ground pork	$y = 1.07x - 0.12$	0.992	-0.025 - 0.287	0.056 - 0.125	0.041 - 0.109
	Raw chicken breast	$y = 1.01x + 0.20$	0.995	0.190 - 0.278	0.078 - 0.079	0.044 - 0.181
Ready to eat foods	Cooked prawns	$y = 1.03x + 0.01$	0.996	0.077 - 0.217	0.042 - 0.151	0.066 - 0.146
	Crab pâté	$y = 1.03x - 0.03$	0.996	0.027 - 0.146	0.082 - 0.131	0.030 - 0.101
Multi component foods	Sandwiches	$y = 1.05x + 0.03$	0.996	0.138 - 0.331	0.072 - 0.104	0.039 - 0.092
	Cooked chilled rice	$y = 1.03x + 0.10$	0.989	0.113 - 0.305	0.093 - 0.148	0.103 - 0.174
Overall		$y = 1.04x - 0.00$	0.993	-0.025 - 0.331	0.034 - 0.188	0.028 - 0.181

Table 2. Statistical relationship between the MC-Media Pad EC method and ISO 4832:2006 (coliform)

Category	Matrix	Regression equation	Determination coefficient (r^2)	Range of difference of mean LogCFU/g (Can-Ref)	Range of Sr	
					MCEC	ISO 4832
Dairy products	Pasteurized single cream	$y = 1.01x + 0.13$	0.993	0.133 - 0.169	0.088 - 0.165	0.077 - 0.157
	Cream cheese	$y = 1.01x + 0.09$	0.999	0.095 - 0.125	0.056 - 0.128	0.041 - 0.123
Fruits and vegetables	RTC vegetable mix	$y = 0.92x + 0.58$	0.992	0.122 - 0.372	0.055 - 0.144	0.048 - 0.124
	Vegetable juice	$y = 1.02x + 0.00$	0.996	0.014 - 0.101	0.054 - 0.115	0.025 - 0.140
Raw poultry and meats	Raw ground pork	$y = 1.02x + 0.06$	0.992	0.073 - 0.155	0.054 - 0.188	0.082 - 0.122
	Raw chicken breast	$y = 1.01x + 0.01$	0.999	0.027 - 0.083	0.064 - 0.086	0.041 - 0.122
Ready to eat foods	Cooked prawns	$y = 1.01x + 0.08$	0.999	0.103 - 0.144	0.047 - 0.147	0.036 - 0.094
	Crab pâté	$y = 1.02x - 0.03$	0.998	-0.001 - 0.115	0.079 - 0.126	0.050 - 0.156
Multi component foods	Sandwiches	$y = 1.01x + 0.07$	0.997	0.104 - 0.149	0.082 - 0.089	0.037 - 0.056
	Cooked chilled rice	$y = 1.03x - 0.11$	0.990	-0.037 - 0.107	0.103 - 0.149	0.090 - 0.129
Overall		$y = 1.00x + 0.09$	0.995	-0.037 - 0.372	0.047 - 0.188	0.025 - 0.157