

# MC-Media Pad SAのAOAC PTMバリデーション

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

## 目的

- 食品の衛生管理や品質管理において、手軽に黄色ブドウ球菌の存在を確認できるシート状培地としてMC-Media Pad SA (MCSA) が開発された。(写真)
- MCSAでは24時間培養後に水色～青色集落を形成する。
- MCSAの性能の妥当性確認を行うために、AOAC RI - MicroVal harmonized validation programに従い評価を行った

## 評価方法

### ●Inclusivity & exclusivity test

標準寒天培地(Oxoid)で35°C、一夜培養を行った53株の*S. aureus*を使用し、Maximum Recovery Diluent(MRD)でLODの100倍(約1000cfu/ml)に希釈した1mlをMCSAに、0.1mlをBaird-Parker寒天培地に供試した。

普通ブイオン(Oxoid)で37°C、一夜培養を行った32株の*S. aureus*以外の菌株の1mlをMCSAに0.1mlをBaird-Parker寒天培地に供試した。

### ●Method comparison test

参照法にはISO 6888-1:1999 (Baird-Parker寒天培地)を使用した。食品はsliced pastrami、cooked chilled sliced chicken roll、cooked-peeled-chilled cold water prawns、smoked salmon、pasta salad、sandwich spread、fresh egg penne pasta、infant pro-biotic cereal、chilled custard、unpasteurized cow's milk Brie cheeseをそれぞれ使用した。

各食品には*S. aureus*をlow (10<sup>1-2</sup>cfu/g)、medium(10<sup>2-3</sup>cfu/g)、high(10<sup>4-6</sup> cfu/g)になるように5検体ずつスパイクし、各食品あたり15検体ずつを試験に供した。

各検体は9倍量のMRDを加え均質化した後、MRDで10倍段階希釈を行い、MCSAとBaird-Parker寒天培地に供試した。

MCSAは35°C、24時間培養後、水色～青色の典型集落数を計測し、Baird-Parker寒天培地はISO 6888-1:1999に従い*S. aureus*数を計測した。

各方法により得られた菌数の対数値から、直線回帰式、相関係数、各食品での平均、標準偏差(Sr)を算出した。

## MC-Media Pad SAの評価結果

### ●Inclusivity & exclusivity test (Table 1)

MCSAと参照法の両方で2株のコアグラゼ陰性*S. aureus*を含む53株の*S. aureus*が典型集落として検出できた。

*S. aureus*以外の32株では、MCSAは全ての株を抑制したが、参照法では2株のみ (*S. delphini*と*S. hyicus*) が非典型集落として検出された。

### ●Method comparison test (Table 2)

全ての食品で参照法との良好な直線回帰ならびに高い相関を認めた。

各食品でのlow, medium, highそれぞれのレベルにおける、MCSAと参照法間の菌数の平均値(mean log cfu/g)の差は、0.320～0.117 log<sub>10</sub> cfu/gの範囲にあり、MCSAと参照法で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MCSAでのSrの範囲は0.028～0.262、参照法で0.030～0.210となりほぼ同等の値であることを認めた。

## まとめ

今回の評価において、MC-Media PadSAは従来法と高い相関を有する方法であることを認め、その性能の妥当性確認において、AOAC PTMの要求を満たすことを認めた。

本結果および製造後3, 10, 15ヶ月経過後の各ロット間の同等性および保存安定性、さらに接種検体量(0.95-1.05ml)、培養温度(33-37°C)、培養時間(22-26h)に関する頑健性が確認でき、2017年5月12日にAOAC Research InstituteよりPTM認証(Cert No. 051704)を受けた。

Table 1. Summary of inclusivity and exclusivity studies

		N	No. of positive on	
			MCSA	Baird-Parker agar
Inclusivity	<i>S. aureus</i>	53	53	53
Exclusivity	<i>Bacillus</i>	2	0	0
	<i>Brocothrix</i>	1	0	0
	<i>Carnobacterium</i>	1	0	0
	<i>Citrobacter</i>	1	0	0
	<i>Enterobacter</i>	1	0	0
	<i>Enterococcus</i>	1	0	0
	<i>Escherichia</i>	1	0	0
	<i>Lactobacillus</i>	2	0	0
	<i>Leuconostoc</i>	1	0	0
	<i>Listeria</i>	1	0	0
	<i>Micrococcus</i>	1	0	0
	<i>Pediococcus</i>	1	0	0
	<i>Pseudomonas</i>	1	0	0
	<i>Salmonella</i>	4	0	0
	<i>Staphylococcus</i>	11	0	2 (atypical)
	<i>Streptococcus</i>	2	0	0



Figure. MC-Media Pad SA

Table 2. Summary of method comparison study

Category	Type	Spiked strain	Matrix	Level	N	Candidate Method		Reference Method		Mean diff. (Can.-Ref.)	95% Confidence Interval		Slope Intercept r <sup>2</sup>
						Mean	s <sub>r</sub>	Mean	s <sub>r</sub>		LCL	UCL	
Meat and poultry	RTE meats	<i>S. aureus</i> CRA 1217 from cooked beef	Sliced pastrami	Low	5	3.057	0.076	3.182	0.136	-0.125	-0.295	0.046	1.03
				Med	5	4.267	0.134	4.453	0.056	-0.186	-0.353	-0.019	-0.25
				High	5	6.372	0.138	6.403	0.076	-0.031	-0.203	0.142	0.990
		Cooked chicken roll	Low	5	3.028	0.050	3.100	0.167	-0.072	-0.336	0.192	0.99	
			Med	5	4.356	0.186	4.374	0.125	-0.018	-0.173	0.137	0.01	
			High	5	6.225	0.112	6.311	0.140	-0.086	-0.276	0.103	0.998	
Ready to eat foods	Cooked fish products	<i>S. aureus</i> CRA 1208 from smoked fish	Cooked prawns	Low	5	2.771	0.193	3.082	0.147	-0.311	-0.567	-0.054	1.02
				Med	5	4.294	0.088	4.370	0.165	-0.077	-0.281	0.128	-0.28
				High	5	6.184	0.215	6.402	0.054	-0.218	-0.493	0.057	0.984
		Smoked salmon	Low	5	3.222	0.120	3.287	0.177	-0.065	-0.291	0.162	0.96	
			Med	5	4.197	0.138	4.377	0.057	-0.180	-0.352	-0.008	0.05	
			High	5	6.230	0.123	6.414	0.188	-0.184	-0.431	0.062	0.987	
Multi component foods	Composite foods with raw /processed ingredients	<i>S. aureus</i> CRA 3097 from pasta	Pasta salad	Low	5	2.729	0.080	2.716	0.109	0.013	-0.130	0.156	0.97
				Med	5	4.061	0.174	4.080	0.122	-0.020	-0.244	0.205	0.11
				High	5	5.821	0.187	5.908	0.210	-0.087	-0.384	0.210	0.997
		Sandwich spread	Low	5	2.788	0.114	2.691	0.101	0.097	-0.064	0.259	0.91	
			Med	5	4.193	0.081	4.207	0.120	-0.014	-0.167	0.139	0.36	
			High	5	5.902	0.046	6.100	0.030	-0.197	-0.258	-0.137	0.991	
Dried/rehydrated & low moisture products	Powders	<i>S. aureus</i> CRA 2095 from milk powder	fresh egg penne pasta	Low	5	2.839	0.053	2.987	0.102	-0.148	-0.273	-0.022	1.02
				Med	5	4.258	0.110	4.366	0.057	-0.108	-0.250	0.034	0.19
				High	5	6.182	0.110	6.247	0.179	-0.065	-0.294	0.165	0.991
		infant pro-biotic cereal	Low	5	2.632	0.111	2.671	0.210	-0.039	-0.299	0.221	1.01	
			Med	5	3.908	0.087	3.974	0.068	-0.066	-0.182	0.050	-0.07	
			High	5	5.949	0.162	5.956	0.091	-0.007	-0.211	0.197	0.994	
Dairy products	Dairy desserts	<i>S. aureus</i> CRA 1215 from cheese	Chilled custard	Low	5	2.708	0.077	2.591	0.145	0.117	-0.063	0.297	0.93
				Med	5	3.756	0.179	3.890	0.138	-0.133	-0.373	0.106	0.24
				High	5	5.833	0.028	5.975	0.043	-0.142	-0.198	-0.086	0.995
		unpasteurized cow's milk Brie cheese	Low	5	2.695	0.262	2.969	0.073	-0.274	-0.612	0.063	0.98	
			Med	5	4.021	0.182	4.266	0.060	-0.246	-0.483	-0.008	-0.20	
			High	5	6.103	0.106	6.423	0.073	-0.320	-0.456	-0.184	0.983	