

## 大腸菌群による牛乳の殺菌後汚染のモニタリング法としての SensiMedia™ の評価

角田有希子\*、栗城均\*、宮下満義\*\*、小川廣幸\*\*、元島英雄\*

(\*よつ葉乳業(株)、\*\*マイクロバイオ(株))

**【目的】**市乳の製造においては、全国的な広域流通と、品質保持期限の延長化の傾向により、殺菌後の微生物汚染(post-pasteurization contamination)が食品衛生上、極めて重大な問題となる。殺菌後汚染は品質保持期限を決定付ける重要な要因である<sup>1)</sup>。国内で流通している大部分の市乳は約 120-130<sup>7</sup>、数秒間の殺菌を経て、ほぼ無菌的な状態であるが、その後の充填工程は無菌的工程ではあっても、微生物学的な意味での無菌ではないので、軽度の汚染が起こりうる。一方で、通常の出荷試験で検出されないレベルでも、保管温度が不良な場合には、汚染菌の増菌がありうる。また、器械のトラブル等での殺菌後汚染の可能性も無視できない。本研究では、殺菌後汚染を簡便で、迅速に検出する実用的な自主検査方法として、マイクロバイオ社の SensiMedia™<sup>2)</sup> を評価した。

### 【材料と方法】

<使用菌株> *Escherichia coli* IFO15034, *Enterobacter cloacae* IFO13535, *Klebsiella pneumoniae* IFO14940, *Citrobacter freundii* IFO12681, *Salmonella typhimurium* ATCC14028, *Serratia liquefaciens* YBBC48, *Hafnia alvei* YBBC52, *Pseudomonas fluorescens* ATCC13525, *Acinetobacter spp.* YBBC63, *Bacillus cereus* ATCC14579, *Bacillus licheniformis* JCM2505, *Bacillus subtilis* YBBC34, *Microbacterium lacticum* JCM1379, *Micrococcus luteus* ATCC4698, *Clostridium perfringens* YBBC39 (YBBC=よつ葉乳業保存菌株)

<使用培地> SensiMedia™ SM002Y 大腸菌群用(マイクロバイオ社)

<検出装置> Biomatic™ 20

<SensiMedia™ の検出時間の評価>

各被検菌を UHT 牛乳で段階希釈後、SensiMedia™ に接種し、検出時間を求めた。

<牛乳パックの増菌培養条件と検出時間の関係>

0.001CFU/ml レベルの軽度な後汚染を検出するために、牛乳パック自体の増菌培養法と SensiMedia™ による検出を組み合わせ評価した。

**【結果】**大腸菌群用 SensiMedia™ を用いて検出時間を評価したところ、37<sup>7</sup> 培養で、1CFU/ml を検出するのに回帰直線から *E. coli*, *E. cloacae* で 13 時間、*K. pneumoniae* で 15 時間、*C. freundii* で 20 時間を要した。乳糖非発酵性の腸内細菌科の *S. typhimurium*、*H. alvei* は 15 時間、*S. liquefaciens* は 21 時間で検出できた。腸内細菌に属さない非発酵性グラム陰性菌 *P. fluorescens* は 10<sup>7</sup> CFU/ml 以下の場合 20 時間までは検出されなかったが、同じ非発酵性グラム陰性菌である *Acinetobacter* は 1CFU/ml が 19 時間で検出された。

低温殺菌乳に残存する主要菌叢である *M. lacticum*, *M. luteus*, *B. licheniformis*, *B. cereus*, *B. subtilis* は 10<sup>7</sup> レベルでも 20 時間以内では検出されなかった。また、BGLB でガスを発生させることがある *C. perfringens* も反応しなかった。これらの結果から大腸菌群用 SensiMedia™ は選択的に大腸菌群及び腸内細菌、一部の非発酵性グラム陰性菌の検出が可能であることがわかった。

また、*E. coli* および *S. typhimurium* の増菌培養では、1 リットルの牛乳パックを 37<sup>7</sup>、4、6 時間培養後、SensiMedia™ で評価したところ、6 時間の予備培養で、0.001CFU/ml を検出可能であることが示された。

**【考察】**SensiMedia™ は、試験管タイプ<sup>7</sup>の既製培地のために、運用は極めて簡単である。また、牛乳パックのままの増菌培養を組み合わせることで、検出感度を 0.001CFU/ml という高感度に設定できるため、殺菌後ライン及び充填機の衛生状態モニタリングするために有効である。DESO 培地を用いた検査と組み合わせることで、適切で迅速な工程管理が可能となると思われる。

**【参考文献】**1) IDF, Catalogue of tests for the detection of post-pasteurization contamination of milk, Bulletin of the International Dairy Federation, no.281, 13-35, 1993.

2) 小川廣幸, 宮下満義, 呈色反応方式による細菌検査の数値化, 食品工業, 43(14), 58-61, 2000.