

氏名・本籍	鈴木 裕之 (東京都)
学位の種類	博士 (生命システム科学)
学位記番号	博甲 第57号
学位授与の日付	令和3年9月22日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 (課程博士)
学位論文題目	エンテロトキシン遺伝子保有ウェルシュ菌の水系から食系への循環とその制御に関する研究
学位論文審査委員	主査 教授 橋本 温 副査 教授 原田 浩幸 教授 西村 和之 教授 三苫 好治

学位論文の要旨

嫌気性芽胞形成菌であるウェルシュ菌(*Clostridium perfringens*)による食中毒は、毎年国内外を問わず細菌性食中毒の上位の発生数、患者数であり、特に1件当たりの患者数が多いことが知られている。本菌による食中毒の制御は、食品衛生上きわめて重要であるが、本菌は人の糞便を始め、土壌や水環境中に普遍的に存在し、明確な汚染ルートの特定が難しいこと、芽胞形成菌であり加熱や塩素等の消毒剤に高い抵抗性を有していることなどから、その対策として食品やその原料の管理のみならず、水域やその汚染源となる人由来の排水などの本菌の循環を考慮した広範なコントロールも重要となる。

本論文では、この食中毒起因菌であるウェルシュ菌の水系-食系における循環の実態や食品の汚染とその経路について調査、考察するとともに、その環境の汚染源の一つである下水処理による制御を目的として一般に用いられる塩素を代替あるいは補完する消毒剤としての過酢酸の効果について検討し、その成果をまとめる。

第1章では、緒言として、本研究の背景と目的を述べる。

次いで、第2章では、ウェルシュ菌の水系-食系の循環のうち、人の感染源として一般に指摘されていない新たなルートの可能性の一つとして、主に市販のジャガイモ等の根菜類のウェルシュ菌の汚染について述べる。ウェルシュ菌の感染源として古くから食肉が疑われているものの、ウェルシュ菌のうち、食中毒に関与するウェルシュ菌エンテロトキシン(*clostridium perfringens enterotoxin, cpe*)遺伝子を保有する株は食肉等からほとんど分離されない。そこで、本章ではウェルシュ菌食中毒の原因食品として多く例示されるカレー、シチュー、煮込み料理等に共通し、土壌の付着の可能性の高い食材であるジャガイモに着目し、市販のジャガイモにおける*cpe*保有ウェルシュ菌の汚染状況について調査した。調査の結果、日本各地で収穫された30試料の市販ジャガイモのうち、10試料(33%)の表面付着土壌からウェルシュ菌288株が分離された。このうち、PCR法にて食中毒の起因菌の可能性のある*cpe*遺伝子を保有すると推定される株は64株(22%)分離された。加えて、この64株の16S rRNA遺伝子シーケンスの結果、これらは大きく3系統に分類され、実際の食中毒由来株との相同性も確認された。市販ジャガイモから食中毒に起因する可能性のある*cpe*保有ウェルシュ菌を分離した例はなく、従来指摘されていなかった根菜類の衛生管理に

対する食品衛生上の意義について新たな知見を得ることができた。

第3章では、第2章で得られた根菜類をはじめとする農作物のウェルシュ菌の汚染ルートの1つになる可能性のある下水放流水の*cpe*保有ウェルシュ菌の分布とその河川等の水環境での負荷について検討する。本章では、先行研究で*cpe*保有ウェルシュ菌が遍在している事が明らかになっているヒト由来の排水を処理する下水処理場の放流水中に存在する*cpe*保有ウェルシュ菌の放流先の環境における動向調査の結果について述べる。また同時に、ヒト糞便に偏在する*cpe*保有ウェルシュ菌の環境中での挙動を追うことで、ヒト由来糞便汚染の探索指標(Microbial Source Tracking: MST)としての意義について2カ所の実河川において評価した結果についても報告する。下水放流水中には*cpe*保有ウェルシュ菌は常に 10^5 cfu /mLのオーダーで存在し、放流先河川において長期間及び長距離にわたって生残していること、人由来の排水は、ウェルシュ菌の点あるいは面汚染源となることが明らかになった。また*cpe*保有ウェルシュ菌が人の糞便汚染を評価する際のMST指標として使用できること、その定量によりヒト糞便汚染の強度が推定可能であることなどを実環境において明らかにし、ヒト腸管由来病原微生物の汚染状況の把握と食水系感染症の制御に資する情報を得ることができた。

第4章では、水環境の大きな汚染源となっている下水処理場放流水のウェルシュ菌の制御を目的として、塩素消毒を補完する新たな消毒剤としての過酢酸による消毒、不活化についての検討について述べる。ウェルシュ菌は芽胞を形成することから、下水放流水の主たる消毒剤として用いられている塩素に対し強い耐性を持つことが知られており、第3章でも述べた通り、下水放流水から多負荷量のウェルシュ菌が環境中に放出されている。本章では近年イタリアをはじめとする諸外国でも環境への負荷の小さい消毒剤として下水放流水の消毒への導入が検討されている過酢酸のウェルシュ菌の不活化効果についての評価結果をまとめる。過酢酸は有機物の共存する下水放流水中でも有機物による消費を受けずに濃度を維持することが可能であり、下水放流水中に存在する野生株のウェルシュ菌の不活化実験において、濃度時間積 $1,200\text{mg} \cdot \text{min}/\text{L}$ での接触によって最大で3 logの不活化が可能であることが示された。このことから、水環境や灌漑用水を通じた農作物のウェルシュ菌の汚染源となる可能性のある下水放流水のウェルシュ菌の消毒法の1つとして、過酢酸による消毒の効果と意義を見いだすことができた。

第5章では、本研究で得られたこれらの知見を総合的に考察し、*cpe*保有ウェルシュ菌の水系-食系の循環とその制御について総括を行う。本論文の研究成果は、細菌性食中毒の上位を占めるウェルシュ菌の人-食品-水系での循環とその制御に関する新しい知見を有し、食品衛生および環境衛生分野における微生物学的な安全性の向上に貢献できるものと思われる。