

食中毒菌の混入した食品が流通すると、生産者・消費者の受ける被害は甚大である。食品生産者は最終製品の細菌検査によって食品安全を確保する。大腸菌群株や好気性芽胞などの衛生指標菌が食品から検出されたはその汚染源として可能性のある全ての場所を清掃して、食中毒菌の食品への混入を未然に防ぐ。しかし、衛生指標菌は工場内の各所に常在する。そのため、汚染源が摘浄化され、食品から指標菌が検出されなくなるまでには、多大な労力・時間・コストを要している。本論文では食品の細菌汚染の場所や経路を、食品の細菌フローラとその食品を製造する工場内各所の細菌フローラを照合する方法により追跡して、食品の安全を確保する技術の開発を行った。

論文は5章より構成されている。序論に続く第2章では、大腸菌群について、食品とその製造設備・環境間のフローラの類似性に基づく汚染源推定技術の開発を行った。まず、5種類の糖からの酸産生性の組合せ（酸産生パターン）を指標にした大腸菌群の型別法を検討した。その結果、食品から頻りに検出される大腸菌群を8コのグループに型別できた。この方法を用いて2つの惣菜工場（A工場・B工場）で得られた大腸菌菌株のフローラ分析を行い、フローラ分析パターンの類似度とそれぞれの菌株を **Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)** 法により株レベルの識別を行うことにより汚染源を特定できることを示した。つぎに、この手法をさらに簡便化するため、糖の資化性と抗生物質耐性の相違を指標にした大腸菌群の型別法を検討し、大腸菌群を4種類に型別した。この型別法で豆腐工場から得られた大腸菌群株に対し、株レベルの識別を行わないで培地上に生育した大腸菌群株を計数するだけでフローラ分析を行う方法を適用した。つぎに、食品と各製造設備・環境間のフローラの相似性をクラスター分析で検討した結果、この方法で汚染源の推定が行えることを示した。

第3章では、好気性芽胞の汚染源を4ヶ所の歯抽工場で推定した。醤油麹とその製造設備表面から得られた好気性芽胞を **RAPD** 法で電気泳動パターンに基づく型別と **16SrRNA** 遺伝子の部分配列に基づく型別を行った。その結果、各工場の好気性芽胞フローラは **Bacillus** 属・**Paenibacillus** 属・**Lysinibacillus** 属・**Sporosarcina** 属・**Oceanobacillus** 属の細菌から形成されていることが示唆された。クラスター分析の結果、推定された醤油麹の汚染源はコンベアや混合機等であり、工場により各々異なることが明らかになった。

第4章では、醤油製造設備から分離された **Sporosarcina** 属細菌と **Oceanobacillus** 属細菌の性質の詳細な解析を行った。**Sporosarcina** 属細菌の遺伝形質の解析（**16SrRNA** 遺伝子・**DNA-DNA** 相同性試験）、形態的観察（グラム染色性・細胞形態・孢子形成位置）、生理生化学的性質（糖からの酸産生・酵素活性）、細胞成分分析（脂肪酸組成・細胞壁のアミノ酸組成・キノン種・リン脂質組成・GC含量の結果から、分離株を **Sporosarcina** 属の新種 **Sporosarcina luteola** として記載した。また、**Oceanobacillus** 属細菌について、同様に遺伝形質の解析、形態的観察、生理生化学的性質、細胞成分分析を行い、この結果から分離株を **Oceanobacillus**

属の新種 *Oceanobacillus soja* として記載した。

以上、本論文は食品の細菌汚染の汚染源を追跡する簡便な技術を開発したものであり、審査委員一同は学術上応用上価値あるものと認め、博士（農学）の学位論文として十分な内容を含むものと認めた。