

学位論文の審査結果の要旨

申請者寺村哉さんから提出された学位論文に関して、4名の学内審査委員と1名の学外の審査委員が独立のその内容を、信州大学大学院において博士（農学）の学位を授与するにふさわしいか審査した

本論文は、食品の安全性において重要な、時に重大な事故を引き起こす微生物の、簡易、迅速で克つ正確な判別を目的とした、培地の開発に関するものである。開発に当たっては、従来多く用いられてきた、培地のpHの変化、卵黄反応といった判別に熟練度を要するものに変え、発色酵素基質と他の微生物の生育抑制物質を組み合わせ、目的とする微生物を他の微生物と明瞭に区別した着色コロニーとして検出している。また開発した微生物は国際的なレベルで認められ得る妥当性の確認も行なっている。

本論文で対象として微生物は、日本における食中毒の原因菌として比較的多い、黄色ブドウ球菌(*Staphylococcus aureus*)、セレウス菌(*Baillus cereus*)、腸炎ビブリオ(*Vibrio parahaemolyticus*)、腸管出血性大腸菌(*Enterohemorrhagic Escherichia coli*(EHEC))の4種類の菌(菌群)だった。そしてこれらをそれぞれ特異的に検出する発色酵素基質培地を開発した。

黄色ブドウ球菌の検出では、黄色ブドウ球菌のマンニトール分解に伴う酸産生と、産生する酸性フォスファターゼを利用し、これに黄色ブドウ球菌以外の菌の発育を抑制する物質を組み合わせた乾燥簡易培地を開発した。黄色ブドウ球菌は本培地上で、明瞭な青色集落を形成し、他の菌と容易に識別することができた。本培地の性能評価は、ISO16140やAOACによる国際的な性能の妥当性確認法に従って行った。その結果、本培地は標的菌に対する包含性と排他性試験、食品での従来法との検出能力の比較、ロット間差試験、頑健性試験の全ての要求性能を満たした。また国際的な性能の妥当性確認をAOAC Research Institute(米国)とMicroVal(欧州)との共同で行い、その共同妥当性確認プログラムでの初の認証を受けたている。

セレウス菌検出のため、セレウス菌が利用する麦芽糖と同じ α 1-4グルコシド結合を有する α -グルコシダーゼ基質を利用し、これにセレウス菌以外の菌の発育を抑制する物質を組み合わせ、乾燥簡易培地を開発した。この際、殺虫性タンパク質を作る点を除くと生理的に同一の反応をする*B. thuringiensis*は、既存の培地と同様にこの培地でも識別は出来なかった。

腸炎ビブリオとその他の病原ビブリオ(*V. cholerae*、*V. mimicus*、*V.*

vulnificus)を同時に検出するため、腸炎ビブリオがβ-グルコシダーゼ基質を分解することを利用し、これに病原ビブリオ検出の指標となるβ-ガラクトシダーゼ基質とビブリオ属菌以外の菌の発育を抑制する物質を組み合わせ、X-VP寒天培地を開発した。この培地により、腸炎ビブリオは明瞭な青色の集落、他の病原性ビブリオは赤紫色の集落として、同時に検出が可能となった。

多くの血清型のEHECを同時に検出するため、β-ガラクトシダーゼ基質、セロビオース、低濃度の乳糖を利用し、これにEHEC以外の菌の発育を抑制する物質を組み合わせ、EHEC-クロムを開発した。この培地により、従来はその血清型に応じて個別に検出する必要があった、O26、O111、O157といったEHECを同一培地上で検出することが可能となった。

これら3種の発色酵素基質培地の性能の妥当性を確認したところ、いずれも良好な包含性と排他性を有し、且つこれらの培地の検出能は従来法と有意差がなかった。以上の成果は、発色酵素基質と非標的菌の発育を抑制する物質を組み合わせることで、標的菌を明瞭な発色集落として確実に検出できることを示しており、衛生検査の効率化に寄与と食品の安全性向上に大きく寄与するものである。

2013年8月7日に行った公開での発表会における申請者の発表は、論文の内容を的確に説明するものであり、内容に関しての申請者の理解度の高さが認められた。その後の口頭による最終試験においても、申請者の受け答えは、的確であった。

試験終了後、審査委員会を開催した結果、全員一致で、申請者：寺村哉さんから提出された論文は学位論文に値し、最終試験は「合格」で、博士（農学）の学位を授与するにふさわしいと判断した。

公表主要論文名

- 1) H. Teramura, J. Sekiguchi, and K. Inoue.: A novel chromogenic screening medium for isolation of enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *Biocontrol Sci.*, 18, 111-115. 2013.
- 2) H. Teramura, M. Uchida, and H. Kodaka: Compact Dry X-BC for the enumeration of *Bacillus cereus* in food samples. *Biocontrol Sci.*, 16, 73-77. 2011.
- 3) H. Teramura, S. Mizuochi, and H. Kodaka: Evaluation of a new chromogenic selective medium for isolation and enumeration of *Vibrio parahaemolyticus*. *Afr. J. Microbiol. Res.*, 5, 3432-3436. 2011.
- 4) H. Teramura, S. Mizuochi, and H. Kodaka: Evaluation of the Compact Dry X-SA method for enumerating *Staphylococcus aureus* in artificially contaminated food samples. *Biocontrol Sci.*, 15, 149-154. 2010.