

審査の結果の要旨

氏名 竹下 奈知子

日本の食中毒事件では、*Campylobacter jejuni* あるいは *Campylobacter coli* (以下、*C. jejuni/coli*) によるものが、細菌性食中毒として最も発生件数が多く、これらに汚染された鶏肉または鶏内臓肉の摂取で胃腸炎を起こす。*C. jejuni/coli* は、養鶏場でニワトリの腸管内に定着し、食鳥処理場で鶏肉へ交差汚染する。従って、養鶏場でのニワトリの汚染を制御できれば、食中毒発生の減少につながると期待される。一方で、全ての養鶏場が *C. jejuni/coli* に汚染されているわけではない。ところで、ニワトリ腸内には多種類の細菌が共存している。そこに外部から *C. jejuni/coli* が侵入したとした場合、単独で侵入するのではなく、汚染源に共存していた細菌も共に侵入するはずである。そこで、ニワトリ盲腸便および養鶏場内外環境試料での *C. jejuni/coli* の汚染と非汚染の検査成績と、盲腸便に対する細菌叢解析の成績を比較すれば、汚染源に特徴的な細菌種を特定できる可能性がある。提出された論文は、これらの仮説を基に、養鶏場のニワトリへの *C. jejuni/coli* の汚染源特定を目的として試料を採集し、それらの *C. jejuni/coli* 遺伝子の有無と細菌叢組成について解析した一連の研究過程を論じたものである。

第1章では、空舎期間での鶏舎内環境試料およびその前後でのニワトリ盲腸便を収集して、Nested PCR で *C. jejuni/coli* 遺伝子を検出した。その結果、汚染の有無は同じ鶏舎でも鶏群ごとに異なり、養鶏場ごとに汚染が続くわけではないこと、また、過去の報告と異なり、空舎期間の清掃で *C. jejuni/coli* は全ての養鶏場で排除されており、鶏群ごとに新たに汚染が起こるという成績が得られた。鶏群ごとの汚染は、海外の試料でも認められた。経時的な調査では、汚染はニワトリの入雛直後から出荷前までのいずれの時期でも認められた。さらに、鶏舎内で使用する長靴底からは、消毒槽浸漬後でも *C. jejuni/coli* 遺伝子が検出され、これらが鶏舎内への汚染源となる可能性が考えられた。一方、鶏舎外の土壌や昆虫からは *C. jejuni/coli* 遺伝子は検出されなかった。

第2章では、害獣駆除等で捕獲され譲渡された野生のアライグマ、イノシシ、シカの糞便から *C. jejuni/coli* 遺伝子を検出した。野生シカ糞便の細菌培養法による過去の調査では *Campylobacter* は検出されておらず、本研究での遺伝子検査法の有用性が示された。この日本でのアライグマに関する成績は、本研究が初の報告と思われる。また、鹿児島で捕獲した野生イノシシの汚染率が 68% と高かったことから、汚染源の候補と考えられたが、北海道にはイノシシは生息しないため、これが日本における共通の汚染源とは考えにくかった。さらに、養鶏場内で回収した野生動物糞便からは *C. jejuni/coli* 遺伝子は検出されなかったことから、今回調査していない他の野生動物の調査、あるいは、同じ地域同じ時期に野生動物糞便と養鶏場ニワトリ盲腸便の調査をする必要があると思われる。なお、養鶏場内に設置した赤外線カメラで、アライグマの侵入が実際に確認されたため、それらの糞便を作業員が踏むことで長靴が汚染される可能性が示された。

第3章では、第1章で収集したニワトリ盲腸便を用いて、細菌叢解析と *C. jejuni* 遺伝子陽性試料に共通して存在する細菌の検出を実施した。まず、成育や飼料の切替えに伴って、存在率の高い細菌は変動せず、存在率の低い細菌が変動した。また、成育や飼料の切替えに伴い細菌叢の多様性は高くなったが、個体差は小さくなった。一方、成育と飼料の切替えによる盲腸便細菌叢の変化は、養鶏場や国の違いによる変化よりも大きく、これが整った環境で飼育される実験用ニワトリと比べた商業用ニワトリでの特徴であった。最後に、*C. jejuni* 遺伝子陽性および陰性の盲腸内細菌叢を比較したが、明らかな違いはなかったことから、*C. jejuni* と共に侵入した他の細菌は腸管内に定着せず排除された、あるいは、汚染源も同じ細菌叢を有する可能性が考えられた。

以上のように、申請者が一連の研究により見出した成果は、鶏群の汚染低減に長靴の清浄性を見直すことの重要性、成育に応じた飼料の切替えが商業用ニワトリ環境を模倣する際に重要であること、および野生動物での *C. jejuni/coli* 汚染に関する基礎的情報を提示できた。さらに、*C. jejuni/coli* のニワトリへの定着能、または汚染源の細菌叢に関する予測を提示したことは、今後の汚染源特定に大いに資するものと期待される。このように、本研究の成果は、本論文が新たな研究分野を開拓したことを示すもので、今後の研究のさらなる発展に寄与するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士（獣医学）の学位論文として価値あるものと認めた。