

ガスプラズマ技術による カンピロバクターの不活化・分解に関する研究

岡山理科大学獣医学部獣医学科衛生学講座食品衛生学部門・教授 作道 章一

■ 目的

カンピロバクターは食中毒の主な原因菌の一つであり、少量でも発症しやすい特徴を持つ。厚生労働省の統計によれば、その原因食品の多くは鶏肉に由来している。実際スーパーで購入した鶏肉を調べたところ、カンピロバクターの高い汚染率が確認されたことから、現行の制御対策は十分でないものと考えられる。研究代表者はこれまでに窒素ガスプラズマによるサルモネラの不活化に成功しており、本研究では同様の技術を応用し、誘電体バリア放電(DBD)による空気プラズマを用いてカンピロバクターへの殺菌効果を解析した。さらに、DNA 損傷やペリプラズム局在タンパク質 PEB1 の変化を調べた。これらの結果から、プラズマのカンピロバクターへの作用メカニズムについて考察した。

■ 方法

Campylobacter jejuni subsp. *jejuni* ATCC 33560 株を用いた。微好気条件下で培養後、滅菌蒸留水で洗浄してエッペンチューブに分注し、トーチ先端から 1cm の距離でプラズマ処理を行った(25°C、100V、0 ~ 2min、流量 3.5 L/min(空気))。プラズマは高電圧(10kV, 10kHz)を印加し DBD 方式で発生させた。未処理対照には空気のみをバージしたサンプルを用いた。生菌数は mCCDA 培地上で培養し CFU(colony forming unit)を計測した。加えて、リアルタイム PCR(polymerase chain reaction)を用いたカンピロバクターの *gyrB* 遺伝子をターゲットとしたゲノム DNA の損傷解析、およびサンドイッチ ELISA(Enzyme-linked immunosorbent assay)を用いた細胞表面への PEB1 の露出の定量を行った。統計解析は GraphPad Prism(GraphPad software)を用いて one-way ANOVA および Dunnett 検定で実施し、有意水準は p<0.05 とした。

■ 結果および考察

カンピロバクターに対するプラズマ処理により、1min で生菌数は 100 分の 1 以下にまで減少した。2min 処理ではより顕著な減少が確認され、具体的には 0min では 6.35×10^6 CFU/ml であったのが、2min では 2.00×10^2 CFU/ml にまで減少した。さらに、リアルタイム PCR 解析で、プラズマ処理で未損傷 DNA が減少し、2min 処理では元の 4.79% まで減少していたことから、ゲノム DNA の損傷が起きていることが示唆された。また、PEB1 の細胞表面への露出は、2min 処理で有意に増加し、プラズマが外膜にも損傷を与えていていることが明らかとなった。しかし、PEB1 の露出は 2min で有意差が認められた一方で、ゲノム DNA 損傷は 0.5min から有意な減少が見られたことから、殺菌メカニズムの主要因はゲノム DNA 損傷であるものと考えられた。これは研究代表者らが過去に *Helicobacter pylori* に対して実施した同様のプラズマ処理実験と一致する結果であり、プラズマ照射時に発生した紫外線が主な殺菌因子である可能性が高いと考えられる。

■ 結語

本研究により、空気を用いた DBD 方式のプラズマトーチ処理がカンピロバクターに対して高い殺菌効果を持つことが明らかとなった。特に、短時間の処理でもゲノム DNA の損傷が顕著であり、殺菌メカニズムの主要因であることが示唆された。さらに、細胞外膜の損傷による PEB1 の露出も観察され、プラズマによる細菌構造の破壊が起きているものと考えられた。今後は、他の殺菌技術との比較によりプラズマの優位性を明らかにするとともに、実際の食品や鶏舎周辺環境への応用可能性を探ることで、より安全な食肉供給に貢献することが期待される。

本研究にご協力いただきました佐賀大学の三沢達也氏および岡山理科大学の神田卓弥氏に感謝申し上げます。