

清掃・洗浄・殺菌 2021

12月号では恒例特集として「清掃・洗浄・殺菌」に関する実践情報をお届けする。今回フォーカスするテーマは「バイオフィーム」。バイオフィームは物の表面と水があればどこにでも形成され、食品工場においても、それが原因の製品の腐敗や劣化が問題となっている。多糖など粘性のある多種多様な物質と複合体を形成しているバイオフィームは、除菌剤や殺菌剤の効力を低下させ、その除去方法が難しいのが実情だ。そこで、どのようにバイオフィーム汚染を防ぎ、除去すればよいのかに焦点を当て、科学的根拠に基づいた洗浄・殺菌の在り方を探る。また、効果的な清掃・洗浄・殺菌を実現する各種技術、関連製品を紹介する。

基調解説

ステップごとに行う バイオフィームによる 汚染の防止対策

バイオフィームはどのような性質を持ち、どこにどのように形成されやすく、どんなリスクがあるのか。基本知識を整理しながら、ここではステップごとに行う効果的な汚染防止対策を紹介する。

要な栄養分を保持する役目がある。つまり、バイオフィームが形成されている場所では、容易に微生物を除去することができない(図1)。

製造工程では閉鎖系・開放系ともに形成される

製造工程では、閉鎖系・開放系ともにバイオフィームが形成される危険が潜んでいる(表1・図2)。

閉鎖系▼流速が遅く有機物が滞留しやすい場所や、劣化しやすい部品を使用している場所にリスクがある。例えば、水製造装置のユースポイントからシェードモナス属菌が検出され問題となるなど、精製水の供給系の管理不良は注意が必要である。

開放系▼混合タンクや貯蔵タンク、ホ

バイオフィームがある場所では容易に微生物を除去できない

食品工場の微生物管理の中でよく聞かれるようになった「バイオフィーム」とは、細菌などの微生物が作る細胞外多糖(Extracellular polysaccharide: EPS)が、その他の有機物でできた粘性のある物質と

複合体を形成し、固体表面に固着した生物膜のことであり、川の中の小石表面のぬめりや排水口の淡紅色をした付着物、歯垢(プラーク)もバイオフィームの一種である。バイオフィームは少量の水と固体表面の有機物があれば形成されるという特徴を持ち、微生物自身にとっては、洗浄剤や殺菌剤、熱などの厳しい環境から身を守るためのバリアの役目や、生き延びるために必

アース環境サービス(株)
開発本部
学術部 次長 兼
営業本部
教育担当 次長
福吉 友郎
Tomoro Fukuyoshi



【プロフィール】

1975年生まれ、東京都出身。98年アース環境サービス(株)入社。2021年7月より現職。IRCA登録主任審査員(ISO 22000)、IRCA登録アソシエイト審査員(ISO 9001・医薬品GMP)。JFS監査員・判定員。

図2 食品工場でバイオフィームが形成されやすい場所(事例)

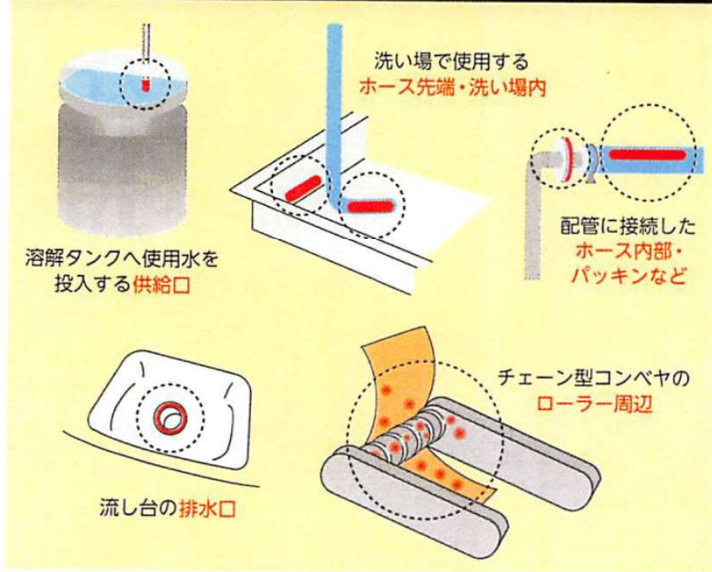


図1 バイオフィームの構成要素

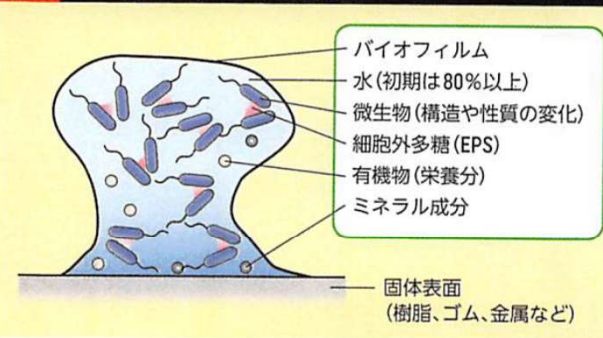


表1 食品工場でバイオフィームが形成されやすい場所(事例)

閉鎖系	<ul style="list-style-type: none"> ・ CIP：定置洗浄中心の配管系 (COP 頻度が低いもの、デッドエンド部) ・ 分解困難な部品 (ポンプ、バルブ、装置内センサーのデッドスペースなど) ・ 飲料用熱交換機 (ロングプレートよりも従来プレート) ・ 樹脂製ホース類、パッキン、ガスケット ・ 精製水の供給系 (SIP：定置滅菌方式や熱水ループ方式の管理ではない場合)
	<ul style="list-style-type: none"> ・ タンク内シャワーボールなどでの洗浄不良場所 ・ 精製水、製品など移送配管の出口周辺 ・ ミキサーなどの回転部周辺 ・ コンベヤ類の裏側・回転部・傷がついた表面 ・ 洗浄用ホース出口、溶接部などのラフな表面 ・ 排水口周辺、床・壁・天井、クーリングタワー

※図表は全て筆者作成

図3 バイオフィームが形成される仕組み



ース類を手洗浄している、あるいは機械洗浄でも洗浄不良となりやすい場所にリスクがある。ホース類の内部でパチルス属菌が検出され、ホース洗浄および交換頻度の見直しを行った事例などがある。

また、バイオフィームは、樹脂やゴムの表面だけでなく、ステンレスの平滑な表面、野菜表面、食鳥表面などにも形成されることも認識しておく必要がある。

設備や部品を選択する際は、耐酸性・耐アルカリ性・耐熱水性に優れているものなど、樹脂やゴムの種類も考

大きくなったバイオフィームは崩壊し微生物を放出

慮する必要がある。通常の洗浄や殺菌で除去できなかったバイオフィームが生産時に欠落し、食品中に混入もしくは付着すると、突発的な腐敗・変敗や菌数異常、限定的な微生物汚染など、多岐にわたるトラブルを引き起こす。

バイオフィームが形成される主な条件は、①固体表面②ある程度の有機物(栄養分)③微生物④ごく少量の水の存在である。つまり、製造工程中のあらゆる食品接触面で形成の危険性がある。また、バイオフィームの形成には時間がかかるため、①④が長時間にわたり残存している環境で形成されやすいが、栄養的に過剰な条件下では微生物は遊離状態となり、通常バイオフィームを形成しないといわれている。

バイオフィーム形成のメカニズムは、初めに固体表面に有機物が付着し、その付着した有機物に微生物が付着し増殖する。微生物が増殖する過程でEPSが生成され、やがて強固なバイオフィームが形成される。大きくなったバイオフィームは崩壊し、微生物が放出される(図3)。

バイオフィームを形成する微生物種

写真1 「バイオスワブ」による拭き取り法

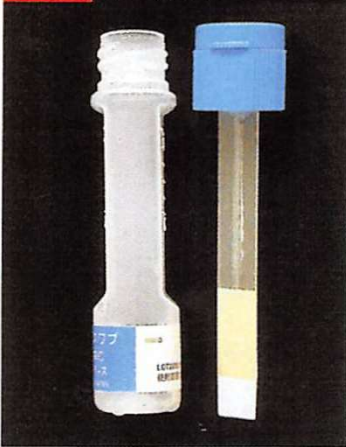


写真2 へら状なのでバイオフィルムをかき取りやすい

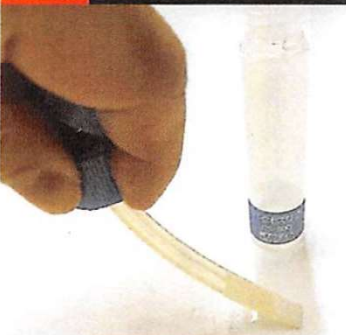


写真3 滅菌ガーゼと滅菌ピンセットによる拭き取り法



表2 バイオフィルムを形成する主な細菌

食中毒起因菌	細菌名	特徴	
グラム陰性菌	<i>Escherichia coli</i>	大腸菌(衛生指標菌)	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	リステリア・モノサイトゲネス(6%食塩水に耐性、4℃で増殖)	
	<i>Salmonella Typhimurium</i>	サルモネラ属菌の一種(少ない菌数で発症)	
グラム陽性菌	<i>Yersinia enterocolitica</i>	エルシニア・エンテロコリチカ(5℃以下でも増殖)	
腐敗微生物ほか	グラム陰性菌	<i>Clostridium perfringens</i>	ウェルシュ菌(芽胞形成で耐熱性)
	グラム陰性菌	<i>Staphylococcus aureus</i>	黄色ブドウ球菌(食品中で毒素産生)
	グラム陰性菌	<i>Alcaligenes faecalis</i>	アルカリゲネス・フェーカリス(自然界に広く存在)
	グラム陰性菌	<i>Enterobacter spp.</i>	エンテロバクター属菌(大腸菌群の一種)
	グラム陰性菌	<i>Flavovacterium meningosepticum</i>	フラボバクテリウム属の1菌種
グラム陽性菌	グラム陰性菌	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	クラブシエラ・ニューモニエ(大腸菌群の一種、肺炎桿菌)
	グラム陰性菌	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	緑膿菌(自然界に広く存在)
	グラム陰性菌	<i>Serratia marcescens</i>	セラチア菌の1菌種(赤色からピンク色を産生)
グラム陽性菌	<i>Bacillus subtilis</i>	枯草菌(芽胞形成で耐熱性)	
グラム陽性菌	<i>Staphylococcus sp.</i>	ブドウ球菌属の菌(多くの菌種で耐塩性)	

バイオフィルムによる食品への微生物汚染を防止する方法

バイオフィルムには、ぬめりとなった目に見えるものもあれば、目に見えない場所に潜んでいるものもある。防止対策の取り組みは、場所の特定から検査、リセット、維持管理といったステップ①▼どの工程で形成されるか

は多種多様である。表2に代表的な食中毒菌や腐敗・変敗菌を示した。特に注意したいのは、バイオフィルムを形成した微生物(バイオフィルム細胞)が加熱処理耐性を持つ点である。例えば、バイオフィルムを形成した緑膿菌は、80℃・10分でも生残する。また、黄色ブドウ球菌は75℃・1分の加熱で最大の殺菌効果が認められているが、バイオフィルムを形成した場合、100℃・10分の加熱処理後でも生残する。

「場所の特定」を行う

製造工程を目視確認し、バイオフィルムが形成されやすい場所をリストアップする。洗浄の見落としが起こりやすい場所、食品残さが付着するホース類、交換していかないパッキンやガスケットは、必須のリストアップ場所である。また、タンパク質を使用する工程の高温水洗浄で熱変性による固着の危険性が考えられる場所、通常洗浄では分解できない回転軸周辺やセンサー取り付け部がないか、溶接不良などのラフな表面がないか、現場の製造工程をよく確認しリストアップする。過去の経験からの思い込みによる問題場所と、実際が異なることはよくある。リストアップの際は、実際の現場で確認し、実際の作業を行う従事者に話を聞くことが重要である。

ステップ②▼「適切な検査方法」で汚染源推定を行う

スタンプ法や強くこすると折れてし

まうような綿棒による拭き取り法では、十分にバイオフィルムを採取することができない。また、乳酸菌のように汚染菌数が低くても流通過程で製品に問題を起こす菌がある一方で、菌数が高くて、さまざまな検査結果や対策実施後の効果確認によって、製品汚染の直接的原因ではないことが確認されるケースもある。菌数によらず、適切な検査方法で十分に採取することが必要である。適切な検査評価方法を2例紹介する。

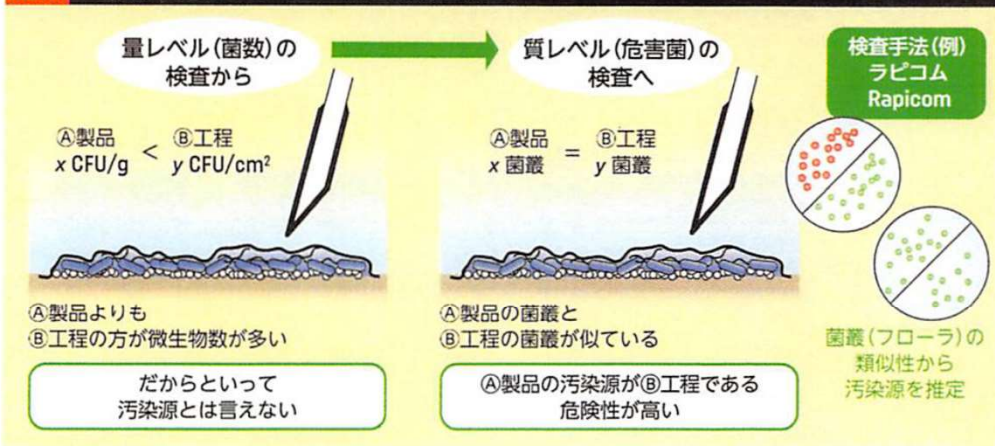
- ①「バイオスワブ」(製造元:㈱アフティス、販売元:㈱エルメックス)による拭き取り法(写真1)

滅菌希釈水と拭き取り器材が一体となったキット。軸の部分が板状でなることによって、強い荷重でも折れずにサンプリングできる。また綿球に当たる部分も扁平なへら状のマイクロファイバー製で、固着したバイオフィルムをかき取ることができる(写真2)。

②滅菌ガーゼと滅菌ピンセットによる拭き取り法(写真3)

生理食塩水を含ませた滅菌ガーゼを滅菌ピンセットで挟み、強い荷重でサンプリングすることができる。バイオスワブのメリットは、滅菌希釈水と一体型のため、サンプリングしやすいこと。滅菌ガーゼのメリットは、広範囲や複雑な構造をしている場所でサン

図4 汚染源を推定するための微生物検査手法



プリングしやすいことである。

また、洗浄消毒計画の妥当性の確認のために多くの食品工場で採用されている「ラピコム(Rapicom®)」の手法は、バイオフィルム対策にも有効である。通常の定性検査や定量検査と異なる増菌培養を採用し、対象となる微生物群に対応した専用培地を用いて、サン

プリング対象(原料、中間品、製品、工程、環境)の微生物集団の構成比(ミクロフローラ)を算出し比較することで、汚染源や汚染経路を迅速に推定する検査方法である。バイオフィルムを形成する微生物は複数種であることが多い。菌数による汚染程度を把握することよりも、その汚染関連性を調べ、関連性が強い場所(汚染経路であると推定される場所)の対策を強化することの方が、微生物管理においては効果的である。

バイオフィルム形成による製品汚染の危険性を検査するためには、確実にバイオフィルムを回収できる検査キットを使用した適切なサンプリングと、菌数による汚染状況評価ではなく、微生物の構成比を把握することで、直接的に製品や中間品に影響している汚染源や汚染経路を推定することが重要となる(図4)。

ステップ③ ▼発見した形成場所への「適切な洗浄殺菌」でリセットを行う

推定された汚染源への対策で特に重要なのは、栄養源の除去と除菌のための洗浄である。洗浄が不十分な状態で殺菌剤処理を行っても強固なバイオフィルムが除去できず、微生物が生残してしまふ。食品工場のバイオフィルム除去に比較的使用しやすい洗浄剤としては、塩素化アルカリ洗浄剤が挙げられる。また、酸洗浄剤はバイオフィル

図5 バイオフィルムの洗浄殺菌方法例



ム除去にはあまり効果はないが、スケールを防止し、表面を平滑化することで初期形成の防止に役立つ。さらに、対象物によっては泡洗浄や手洗浄を活用することが望ましい。十分な洗浄の後に、過酢酸製剤を殺菌剤として使用すれば、高い殺菌効果が得られる(図5)。

ステップ④ ▼日常清掃と定期監視で維持管理を行う

バイオフィルムによる微生物汚染を再発させないためには、日常や定期的な洗浄殺菌方法の確立と、定期的な拭き取り検査により汚染状況の監視を行う。再発や新たな問題が発生する際には、「製造工程が変わる、原材料が変わる、洗浄方法が変わる、作業者が変わる、洗浄剤・殺菌剤が変わる、新製品が投入される、繁忙期になる、洗浄時間が確保できない、季節製品を製造する」などが現場で起こっていることが多い。このような事案が生じた場合は、特に監視を強化する必要がある。

バイオフィルム形成が原因のトラブルの実例

缶詰製品での耐熱性菌の検出

ある農産物缶詰で一般生菌数の基準逸脱が発生し、原因菌種を調べた結果、耐熱性菌の一種であることが判明した。概略工程は、原料洗浄→加熱調理→一時保管→充填・巻き締め→レトルト殺菌→冷却。殺菌条件は、中心温度120℃・4分相当以上である。原因調査の結果、原料由来の耐熱性菌と同じ菌叢が、加熱調理の洗浄不良場所と一次保管容器の内壁面で検出され、基準逸脱はこの2カ所でのバイオフィルム形成と、レトルト殺菌における製品

の整列ばらつきによる殺菌不良が原因であることが判明した。その後、洗浄不良場所の塩素化アルカリ洗浄剤によるリセット洗浄と過酢酸系殺菌剤の処理で汚染源を除去し、レトルト時の製品整列方法を均一にすることで菌数逸脱がなくなった。

◆
食品工場におけるバイオフィーム形成対策は、通常と異なる製造時に、製造責任者と品質責任者が連携して、微生物汚染源となる工程や現場がないか確認し、汚染の危険性がある場所の洗浄殺菌方法の追加や見直しについて、現場作業者が実現可能な方法と頻度で確立し、予防管理を行うことが重要と考える。

【参考文献】

- 1) 森川正章、平成18年度 病原微生物データ分析 実験作業 成果報告書「食中毒細菌バイオフィームの加熱殺菌に関する実験」、1-17 (2007)
- 2) 伊藤武、海賀信好、森江康雄、茂呂昇、設楽英夫、猪野毅、重大食中毒菌管理のためのバイオフィームの防止策、サイエンスフォーラム (2012)
- 3) 猪野毅、バイオフィーム汚染対策はお済みですか？、ESCO News Letter、第2巻、第17号 (2013)
- 4) 矢野圭介ら編、バイオフィーム検査用スワブの評価、クリーンテクノロジー、2019年6月号、27-29 (2019)
- 5) 兼松秀行、バイオフィームの特徴・評価と各種対応策、工業技術会 (2021)