

## 微生物制御の基礎と現状

松 村 吉 信\*

### Fundamentals and present problems in microbial control

Yoshinobu MATSUMURA\*

#### 1. はじめに

これまでの日本社会では“快適性”を求める要望が高く、自動車や電化製品などもその快適性を追求する技術革新に傾向してきた。しかしながら、一定の快適性が多くの場面で確保されるようになると、社会生活における“安心・安全”に対する国民の意識が非常に高まるようになってきている。これは、今後深刻化する少子高齢化社会に対する不安、地球温暖化や頻発する自然災害などの技術革新では対応不可能と考えられている問題からだけではなく、本来、“安全・安心”が提供されているはずの医療・福祉関連施設や公共施設、レストランやホテルなどの飲食を提供する施設における感染症の集団発生や、非常に高度な製造・品質管理技術で製品化されている食品や医薬品における異物や病原体の混入、これまであまり想定されなかった電気機器をはじめとする住環境における微生物やウイルス、汚れの定着に起因する感染症やアレルギー発症が日常的に報告されるようになり、衛生環境の高まりや集団感染などの発生数が減少傾向を示す現在においても、より高い衛生環境の必要性が求められる状況であるとともに、常に身近な環境で“安心・安全”を脅かす原因が潜んでいるのが現状であるのに起因する。厚生労働省の薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会食中毒部会における配布資料<sup>[1,2]</sup>を見ると平成29年の国内で報告された食中毒事件数は1,014件、患者数は16,464名、死亡事故は3件（3名）となっており、その件数や患者数は平成11年からの統計データを見ると減少傾

向ではあるものの、直近8年間を見るとその件数は1,000件前後で推移し、食中毒事件の根絶の難しさが浮き彫りとなっている。一方で直近8年間の患者数を見ると減少傾向が続いていることから、集団感染発生後の対応については一定の改善がうかがえる。さらに、これら食中毒事件・事故の詳細を見ると、患者数500名を超える事故は平成29年だけで2件が報告され、それぞれ学校給食施設共同調理場におけるノロウイルスの混入によるものと特定された。死亡事故となった3件の内2件は病原性バクテリアが原因と特定され、また、腸管出血性大腸菌による事故として患者総数11名の飲食店における集団感染が報告されている。このように“食”に限定した事件・事故ではあるが、90%以上がバクテリアやウイルス、寄生虫などの微生物が原因と特定されており、社会生活における“安全・安心”を脅かす大きな原因として病原性微生物が挙げられるようになってきている。このため、食品の製造工程から消費までの間の殺菌処理を含む微生物制御技術や衛生管理秘術の重要性が強く認識されている。しかしながら、近年の衛生管理技術の進歩ならびに商品製造工程や運搬・販売に関わる従事者や消費者への衛生管理に関わる教育の向上など、多くの対策がとられているものの、根本的な解決策は見出されていない。一方で、一旦集団食中毒事件（事故）が発生すると、原因となった商品を提供した企業はその補償による損失だけではなく、企業イメージも大きな低下し、場合によっては企業活動の停止に追い込まれる場合も少なくない。このため、微生物制御技術や殺菌技術の基礎を知り、その有効性と限界を把握することが重要となる。そこで、この総説では微生物制御技術の基礎のその限界について解説したい。

原稿受付 2018年10月15日

\*化学生命工学科 生命・生物工学科 教授

## 2. 工業製品などによく用いられる「抗菌」

近年の清潔志向ブームで、一般家庭にまで様々な抗菌処理が施された製品が提供され、生活衛生環境維持に役立つと考えられるようになってきている。一方で、「抗菌」や「除菌」など、微生物制御に関わる用語がパッケージやコマーシャルでよく見聞きするものの、その具体的な効果についてはよく理解されていないのが現状だと感じられる。実際に、2000年以前では、業界団体でも「抗菌」などの微生物制御に関する用語の解釈が使用状況によって異なっていた。そこで当時の通商産業省生活産業局（現在の経済産業省製造産業局）が中心となって「抗菌（antibacterial）」の定義の統一化が図られ、「抗菌（antibacterial）」とは“当該製品の表面における細菌の増殖を抑制すること”とし、「細菌」とは“黄色ブドウ球菌や肺炎桿菌、大腸菌など”の身近に存在する一部の病原性バクテリアを対象とした「抗菌加工製品ガイドライン」<sup>[3]</sup>が1999年に策定され、その後、日本工業規格（JIS）の「繊維製品の抗菌性試験方法及び抗菌効果（JIS L1902）」や「抗菌加工製品 - 抗菌試験方法・抗菌効果（JIS Z2801）」でそれぞれ繊維製品と繊維製品以外における一部のバクテリアに対する抗菌効力評価系が規格化され、「抗菌」が示す効力に一定の基準が導入されることになった。その後、光触媒機能を有した抗菌性製品の評価系として「ファインセラミックス - 光触媒抗菌加工製品の抗菌性試験方法・抗菌効果（JIS R1702）」が、また、抗ウイルス活性評価系として「繊維製品の抗ウイルス性試験方法（JIS L1922）」が策定され、さらにこれらは国際規格 ISO へと受け継がれている。一方で、カビや酵母などの真菌類に対しては、製品の抵抗性（製品上での真菌類の生長に対する抵抗性）を評価する「かび抵抗性試験方法（JIS2911）」は定められているものの、抗真菌効力（積極的な増殖抑制効果や殺滅効果）評価系については規格化は進んでおらず、業界団体による自主的な評価方法の策定に止まっているのが現状である。これは主に多細胞状態で生育する真菌類の生死判定をどのように評価するのが正確であるのか専門家

でも意見が分かれるためであろう。つまり、現状では微生物全般における抗菌（antimicrobial）力評価方法が定まっていないことを示すとともに、微生物全般に対する「抗菌（antimicrobial）効果（力）」を的確に評価するのが困難となっており、現在の抗菌製品に効果的な抗真菌類効果は期待しにくいのが現状である。

微生物制御・殺菌工学という基礎的・科学的視点から、抗菌（antimicrobial）について考えてみると、まず、微生物制御技術の総称である「抗菌（antimicrobial）」とは「生存・分裂可能な微生物細胞を殺滅・不活化あるいは除去、増殖抑制する技術」と言える。ここで示された微生物細胞とは顕微鏡で観察できる程度の小さな生物の総称であり、バクテリアだけではなく、カビや酵母、キノコを含む真菌類（菌界）、古細菌（アーキア）、一部の微細な原生生物や線虫などの微細動物、ウイルスやファージが含まれる、分類学上非常に多岐にわたる生物群を示し、その効果も「殺滅」だけではなく、「除去」や「増殖（細胞分裂）抑制」まで含む技術であることから様々な方法が考案されている。表1によく用いられる抗菌技術を示した<sup>[4]</sup>。

この表の中で示された「殺菌」とは微生物細胞を著しく効果的に死滅させることのできる処理法で、その中でも、特定の閉鎖された空間内の微生物を完全に死滅させることのできる処理法を「滅菌」と呼び、高温長時間の加熱処理（オートクレーブ滅菌や乾熱滅菌）、 $\gamma$ 線や電子線などの放射線処理などがよく知られている。なお、殺滅はできないものの、孔径 $0.2\mu\text{m}$ 以下のフィルター（精密ろ過膜や限外ろ過膜など）での処理は液体あるいは気体中の微生物を完全に除去できるため滅菌処理として活用されている。「静菌（制菌）」とは細胞の生長や分裂を停止させるあるいは抑制する処理のことを示し、微生物が存在する周辺環境を増殖や分裂に適さない状態に変える場合も静菌処理と呼ばれる。また、弱い殺菌処理も静菌的な作用を示す場合もある。「除菌」とは微生物を殺滅するのではなく、特定の空間から微生物細胞を除く処理で、ろ過や洗浄処理などが一例である。さらに、表には示していないが「消毒」も医療分野ではよく使われる。これは病原

表1 主な抗菌処理法

分類	抗菌処理
殺菌	加熱処理、電磁波処理（マイクロ波、赤外線、紫外線）、超音波処理、加圧・減圧処理、電気処理、抗生物質・殺菌剤処理（塩素系殺菌剤、酸化剤系殺菌剤、第四アンモニウム塩、アルコール・アルデヒド・カルボン酸・フェノール類、銀イオンなど）
滅菌	オートクレーブ滅菌、乾熱滅菌、ガス滅菌、放射線滅菌（ $\gamma$ 線、電子線）、ろ過滅菌
静菌（制菌）	水分活性調整、pH調整、温度調整（冷蔵・冷凍）、酸化還元電位調節、栄養源調節（飢餓）
除菌	ろ過、洗浄、集塵、凝集

体の病原性を無くすあるいは殺滅し、無毒化する処理のことで、「抗菌」と同義で使用される場合が多い。

### 3. 製品に求められる微生物衛生管理基準

表1で示した処理法を閉ざされた空間で処理した場合、殺菌処理では一定数以上の細胞が死滅することを示し、滅菌処理では（一般的な方法では）細胞の生存が確認できないことを意味する。当然ではあるが、それぞれの処理を短時間で行えば抗菌効果は小さくなり、長時間行えば高い効果が得られ、微生物によるリスクはほとんどなくなることを意味する。しかしながら、閉ざされた空間内にある製品における抗菌処理を長時間行うと考えると少なからず機能低下が生じる。そのため、製品毎で求められる微生物衛生基準は異なる。例えば、医療分野では多くの場合で微生物細胞が（少なくとも生きてまたは生理活性を有する状態で）存在しない滅菌状態が求められ、食品では必要以上の抗菌処理を行うと食品本来必要とされる栄養や風味・食感が著しく劣化することから、安全性が確保される微生物衛生管理基準の維持が求められることとなる。そこで我国では、医療分野や医薬部外品、化粧品については薬機法（医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律）や日本薬局方で、食品については食品衛生法や食品・添加物等の規格基準、食品の衛生規範で、それぞれに求められる微生物衛生基準が定められ、その遵守が求められている。一例を示すと、無菌医薬品では最終滅菌法での製造が求められ、(1)「滅菌される物が最終容器又は包装に収められた状態において行い、当該滅菌後の微生物の死滅が定量的に測定又は推定できるような滅菌方法」とされ、(2) 通例、 $10^{-6}$ 以下の無菌性保証水準（SAL）が得られる条件で処理することが求められている。なお、この条件で処理された製品では $10^6$ 個の製品を微生物検査しても全てにおいて生育可能な微生物が検出されないことを意味している。生薬などの非無菌医薬品においても好気性細菌数や真菌数は一定数以下であり、黄色ブドウ球菌や大腸菌、緑膿菌などの特定の病原性細菌が未検出であることが求められている。一方で、食品においては、長期保存が可能な缶詰などの容器包装詰加圧加熱殺菌食品〔清涼飲料水、食肉製品、鯨肉製品及び魚肉ねり製品を除く〕では、(1)「原材料等に由来して当該食品中に存在し、かつ、発育し得る微生物を死滅させるのに十分な効力を有する方法」であり、(2)「そのpHが4.6を超え、かつ、水分活性が0.94を超える容器包装詰加圧加熱殺菌食品にあつては、中心部の温度を $120^{\circ}$ で4分間加熱する方法又はこれと同等以上の効力を有する方法」であることと定められている。

この条件は耐熱性が非常に高く、致死性の高い毒素を生産する食中毒菌であるボツリヌス菌（*Clostridium botulinum*）芽胞（胞子, spore）を十分に殺滅させることのできる条件（ $10^{12}$ 個の芽胞を殺滅させる条件）となっている。これらは非常に高度に微生物衛生管理された製品ではあるが、このような製品ばかりではない。乳製品や食肉製品（加工品を含む）、食鳥卵、魚介類製品などでは、原料や製造工程の特性から高度な衛生管理は期待できず、一定数のバクテリア（細菌数）の存在を認められながらも、大腸菌群や大腸菌、黄色ブドウ球菌、腸炎ビブリオの陰性確認と賞味期限や消費期限を設定し、安全性が確保される品質管理に留められているものも多い。結果的には、製品の機能維持と安全性確保や微生物衛生管理の両立が望まれることとなる。言い換えると、抗菌処理技術には微生物細胞の死滅予測（あるいは生残予測）が求められる。次に、食品や医薬品の製造工程で最もよく利用されている加熱処理におけるバクテリアの栄養細胞（活発に分裂を繰り返す生理状態の細胞）の死滅速度モデル（論）を解説する。

### 4. 加熱処理工程における死滅速度モデル<sup>[5]</sup>

微生物細胞殺菌から滅菌まで幅広く活用されているのが加熱殺菌である。加熱方法としては液体または液状で加熱（ $60-100^{\circ}\text{C}$ ）するタイプから、加圧して加熱（ $100^{\circ}\text{C}$ 以上）するタイプ、水を含まず大気環境中で加熱する乾熱タイプがある。経験的ではあるが、処理温度が高く、水分を含む環境で殺菌効果が高くなる。また、単一微生物細胞に対して常に処理温度などの環境条件が変動しない場合、処理後の生残細胞数は経験的に図1の実線のように予測できる。今、加熱処理後の

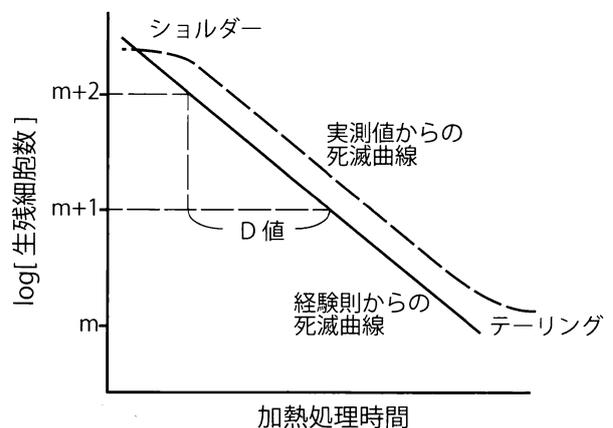


図1 加熱殺菌処理（一定温度）中の微生物細胞の死滅（生残）曲線  
実線は経験則から予想される曲線、点線は実測値から得られる曲線

生残細胞数を  $N$ 、処理時間を  $t$ 、死滅速度定数を  $k$  で表すと、

$$\frac{dN}{dt} = -kN$$

となる。この式は、生存細胞から死滅細胞への移行が一分子反応と考えることができることを意味している。また、 $k$  値が大きい微生物細胞ほど、使用した処理温度で死滅しやすいことを意味する。さらに、処理前の細胞数 ( $N_0$ ) が既知の場合、 $t$  時間処理後の生残細胞数 ( $N_t$ ) は

$$N_t = N_0 \cdot e^{-kt}$$

または

$$\begin{aligned} \log N_t &= \log N_0 - (k \cdot \log e) \cdot t \\ \log N_t &= \log N_0 - (k/2.303) \cdot t \\ \ln N_t &= \ln N_0 - k \cdot t \end{aligned}$$

と表すことができる。ここで示す  $\log$  は常用対数、 $\ln$  は自然対数、 $e$  は自然対数の底 (ネイピア数) を示す。これらの式を変形すると、生残細胞数を1/10に減少させるのに必要となる処理時間  $D$  値 (Decimal reduction time) が算出され、

$$D = 1 / (k \cdot \log e) \text{ または } 2.303 / k$$

と表される。この  $D$  値は“微生物細胞の耐性指標”として活用される。さらに、加熱処理温度  $T$  °C での  $D$  値を  $D_T$  としてその関係をグラフに表すと経験的に図2の熱耐性曲線が得られ、

$$\log \frac{D_T}{D_{(T-z)}} = 1$$

となる。ここで示す  $Z$  値は、“微生物細胞の熱死滅における処理温度依存性”を示す指標となり、 $Z$  値が小さいほどその細胞の熱死滅は温度依存性が高くなり、温度を高くするほど殺滅効果が高くなることを示し、 $Z$  値が大きい細胞では低い処理温度での殺菌が効果的となる。

一方で、前述のように、加熱処理による生存細胞か

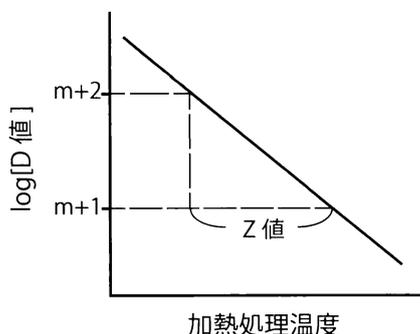


図2 熱耐性曲線

ら死滅細胞への移行 (微生物細胞の死滅反応) を一分子反応と仮定すると、死滅反応の活性化エネルギー  $E_a$  は、気体定数  $R$ 、加熱処理の絶対温度  $T_a$ 、頻度因子  $A$ 、死滅速度定数  $k$  で示すことのできるアレニウスの式に従い、

$$k = A \cdot e^{(-E_a/RT_a)}$$

となり、死滅反応の活性化エネルギーより、微生物細胞の耐熱性を議論することが可能とある。このような死滅速度のモデル化は加熱処理反応だけではなく、抗菌処理中の処理条件および環境因子が変動しない条件下では抗菌処理後の生残細胞数の予測が可能であることを意味し、製品における殺菌処理条件の構築に活用されている。

## 5. 加熱殺菌工程の能力評価<sup>[5]</sup>

上述のような加熱殺菌処理のように処理条件や環境条件を一定となる場合、単一の生理状態の微生物細胞の生残細胞数は比較的容易に予想できる。これを利用し、加熱殺菌工程の処理能力が評価できる。例えば、80°Cで湿熱加熱 (水分を十分に含む加熱) 処理する装置で  $t_{80°C}$  分間加熱し、80°C加熱の  $D$  値が  $D_{80°C}$  分となるバクテリア細胞を殺滅させると想定すると、その装置の殺菌能力は、不活化ファクター ( $IF$ ) や減少指数 ( $n$ ) で表すことができる。

$$IF = 10^{(t_{80°C}/D_{80°C})} = 10^n$$

しかしながら、この場合、対象となる微生物細胞によって不活化ファクターや減少指数は変動し、さらに、加熱処理工程中で必ず生じる昇温・冷却過程の殺滅効果も評価されない。そこで、 $Z$  値10°Cの微生物細胞を基準温度 (121°Cまたは121.1°C) で一定時間処理した場合の致死割合を1とすると、 $T$ °Cで一定時間処理後の致死割合 ( $L_T$ ) は

$$L_T = 10^{(T-121)/Z}$$

と表される。この値を用いると変動する湿熱加熱処理工程中の  $Z$  値10°Cの微生物細胞の殺滅量を基準温度での処理時間 ( $F_0$ 値) として標準化することができ、

$$F_0 = \int L dt$$

となる。この  $F_0$ 値は結果として湿熱加熱処理工程中の能力として評価できるものとなる。一方、水分を含まない乾熱加熱処理では、微生物細胞の熱耐性およびその加熱処理依存性が湿熱加熱と異なることが知られていることから、基準となる微生物細胞の  $Z$  値は20°C、処理温度は170°Cと設定され、 $F_0$ 値が算出され

ている。これにより熱処理工程間の殺菌効率が評価できるものとなる。

## 6. 殺菌処理における問題点

「はじめに」でも記述したように抗菌技術の高度化に伴い、製品に混入した微生物による集団感染症の発生は少なくなっているものの、食中毒に限定しても年間約1,000件の事故・事件が発生している。この中には明らかにヒューマンエラーが原因となる事件もあるものの、エラー発生だけを原因と考えるのが合理的でない場合もある。例えば、図1の点線で示したように、加熱処理の場合、処理直後に微生物細胞死滅が観察されない時期（ショルダー）や加熱最終段階においても生残細胞が確認される場合がある（テーリング）。この現象の原因はよく理解されていないものの、特にテーリングの存在は汚染菌事故につながることから注意されている。また、抗菌処理の不均一性もあげられる。加熱処理で製品の表面は目的温度に到達していても内部温度は目的温度に到達していない場合もある。また、抗菌剤を用いた殺菌処理装置では殺菌剤が装置内部で不均一となり、十分な効果が得られないこともある。このように実験室では効果が確認できる場合でも、現場では十分な効果が得られない場合も多く、常に殺菌処理効果をモニタリングする必要がある。一方、混入している微生物細胞の性質による場合もある。多くの場合、製品に汚染している微生物（バイオバーデン）は原料および製造工程中に汚染する。原料では、季節やその生産環境の違いによって汚染菌の種類も異なることが多い。つまり、抗菌処理耐性の異なる汚染菌が常に付着していると考えが必要がある。原料の購入先を変更する場合などでは特に注意が必要となるが、汚染菌の検出とそれらの抗菌処理耐性を常にチェックし、抗菌処理耐性の最も高い汚染菌や汚染量の最も多い汚染菌の殺滅条件を求め、殺菌処理工程に反映させる必要がある。このような考え方は医薬品製造におけるGMP（Good Manufacturing Practice, 医薬品適正製造基準）や食品製造におけるHACCP（Hazard Analysis and Critical Control Point, ハサップ）、ISO22000に取り入れられ、品質管理や安全性確保、品質性改善に活用されている。

一方、微生物細胞も抗菌処理に耐性を示す場合がある。例えば、微生物細胞には活発に分裂を繰り返す「栄養細胞」状態と分裂を停止した状態である「休止細胞」や「休眠細胞」状態が存在する。一般に抗菌処理条件の決定に用いられる栄養細胞は抗菌処理に感受性を示すが、バクテリアの芽胞や真菌類の胞子などの休眠細胞は高い耐性を示す場合が多い、例えば、*Bacillus* 属

細菌や *Clostridium* 属細菌などで形成される芽胞は耐熱性だけではなく様々の抗菌処理に高度な耐性を示すため、これらが汚染しやすい原料や製品、長期間保存を可能とする処理を施したレトルト製品や缶詰では芽胞の殺滅条件での抗菌処理が求められている。一方、芽胞形成しないグラム陰性菌では、芽胞に比べ容易に殺滅することができると考えられていたが、予想に反して抗菌処理後にわずかに生残する細胞が確認されている。これまでは抗菌処理時のエラーと考えられてきたが、実際には胞子や芽胞とは異なる休眠細胞「persister cell」と呼ばれる細胞であると確認されるようになり、このような新たな休眠細胞の対策が必要となっている<sup>[6]</sup>。さらに、バイオフィームなどの細胞集団を形成する場合もある。このバイオフィームは微生物細胞だけではなく、細胞が生産する多糖類やタンパク質、核酸や脂質などの高分子化合物を多量に含み、さらに、栄養細胞だけではなく、様々な休眠細胞も含まれる高次元の複合集団で、環境中では様々な環境ストレスにも耐えうる構造体と考えられている<sup>[4]</sup>。製品や製品を製造する機器類などの環境にバイオフィームが形成されるとその殺滅や除去は困難となり、バイオフィームが形成されない環境維持が微生物汚染の軽減につながるものと考えられる。また、活発に分裂を繰り返す栄養細胞では弱い抗菌処理でストレス応答を引き起こし、ストレスで生じた障害を修復し、ストレス自身を弱め無効化することができるようになることも知られている（ストレス応答）。このストレス応答した細胞は限定的ではあるが抗菌処理抵抗性を示す場合もある<sup>[7]</sup>。そのため、汚染菌が生育していた環境によってその生理状態が異なり、結果として、抗菌処理に対する抵抗性も異なることが多い。今後は、汚染微生物細胞の種類や数だけではなく、その生理状態を把握し、より効果的な抗菌処理条件の構築が製品の品質や安全性向上に役立つものと考えられている。

## 7. 最後 に

微生物制御は製品の品質や安全性向上に非常に重要な技術である。その中で抗菌処理技術の向上は非常に重要で、より確実に微生物細胞を殺滅・除去できる技術の開発が求められている。一方で、対象となる微生物細胞の研究は多くない。栄養細胞の抗菌処理に対する抵抗性や耐性は比較的研究され、その情報をもとに抗菌処理条件が決定されているものの、最近では、栄養細胞よりも非常に高い耐性を示す様々なタイプの休眠細胞が知られるようになり、より完全な殺滅が非常に困難であると考えられるようになった。これらは栄養細胞と異なる休眠細胞の生理状態があまり把握され

ていないためである。今後は休眠細胞の生理状態や細胞構造の解明が重要となるだろう。さらに、微生物細胞は単独で生育する場合は少なく、集団を形成していることが多い。このような集団の中にはバイオフィームと呼ばれる非常に高度に組織化された細胞集団を形成している場合がある。バイオフィーム内の細胞は休眠細胞を含め様々な生理状態の細胞が存在するだけでなく、微生物細胞が生産した高分子成分が抗菌処理に対する保護として機能していると考えられているため、一旦成熟したバイオフィームが形成されるとその殺滅や除去は非常に困難となる<sup>[8]</sup>。様々な研究者がバイオフィーム形成機構およびその構成成分の生理的役割を研究しているが、バイオフィームを効果的に制御する方法は見つかっていない。今後の研究に期待される場所である。

#### 参考文献

- [1] 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会食中毒部会. 配布資料1「平成29年食中毒発生状況概要版及び食中毒事案 (<https://www.mhlw.go.jp/file/05-Shingikai-11121000-Iyakushokuhinkyoku-Soumuka/0000197210.pdf>)」(2018).
- [2] 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会食中毒部会. 配布資料2「平成29年食中毒発生状況 (<https://www.mhlw.go.jp/file/05-Shingikai-11121000-Iyakushokuhinkyoku-Soumuka/0000197212.pdf>)」(2018).
- [3] 通商産業省生活産業局 編. 抗菌加工製品ガイドライン～新しいルールづくりに向けて～. 大蔵省印刷局 (1999).
- [4] 松村吉信. バイオフィームの生成メカニズムと洗浄・殺菌技術クリーンテクノロジー, vol. 26 no.11 p57-61 (2016).
- [5] 松村吉信. 微生物細胞死滅の搬送測度論. 食と微生物の辞典 (北本勝ひこ 等 編) p288-289, 朝倉書店 (2017).
- [6] T. K. Wood, *et al.*, Bacterial persister cell formation and dormancy. *Appl. Environ. Microbiol.*, **79**, 7116-7121 (2013).
- [7] T. Abee & J. A. Wouters, Microbial stress response in minimal processing. *Int. J. Food Microbiol.*, **50**, 65-91 (1999).
- [8] 松村吉信. 一般的なバイオフィーム構造とその形成過程. バイオフィーム評価. (バイオフィーム制御に向けた構造と形成過程—構造・問題点・事例・有効利用から読む解くアプローチ—. 松村吉信監修) p1-12, シーエムシー出版 (2017).