シリーズ特集「損傷菌」

解説

野菜栽培環境における損傷菌の発生と対策

木嶋伸行^{1*}, 湊 啓子², 本城賢一³, 前田征之⁴

¹ 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 野菜花き研究部門

² 地方独立行政法人北海道立総合研究機構 畜産試験場

³ 国立大学法人九州大学大学院農学研究院生命機能科学部門

⁴ 新潟県農業総合研究所基盤研究部

Injured Foodborne Pathogens in the Vegetable Production Process

Nobuyuki Kijima^{1*}, Keiko Minato², Ken-ichi Honjoh³ and Masayuki Maeda⁴

¹ Institute of Vegetable and Floriculture Science, National Agriculture and Food Research Organization, 3-1-1 Kan-nondai, Tsukuba, Ibaraki 305-8519

² Animal Research Center, Hokkaido Research Organization, 6-39-1, Shintoku, Kamikawa, Hokkaido 081-0038

³ Department of Bioscience and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Graduate School, Kyushu University, 6-10-1 Hakozaki, Higashi-ku, Fukuoka-shi, Fukuoka 812-8581

⁴ Niigata Agricultural Research Institute, 857 Nagakura, Nagaoka, Niigata 940-0826

Currently, injury of foodborne pathogen in agricultural environment is unclear. So, we observed survival of foodborne pathogens on common procedure for growing vegetable by cultivation on two types of agar medium that possess different selectivity. In case of *Salmonella enterica* serovar Infantis (SI) on the process of manure preparation, injury was estimated by cultivation on selective agar medium and resuscitation on non-selective agar medium. While in *Listeria monocytogenes* (LM) on cultivation environment of tomato, physiological changes were confirmed by salt content in agar medium. In manure environment, insufficient elevation of temperature in piled feedstock caused injured SI. LM survived for long term and part of these survived as injured LM in soil and on the surface of tomato fruits. It might be possible to estimate injured SI in actual condition of manure preparation by above procedure. On the contrary, there are practical difficulties for discriminating injured LM in actual agricultural environment by only salt sensitivity.

(Accepted Dec. 8, 2017)

Keywords : injured cell, foodborne pathogen, vegetable, manure preparation

キーワード : 損傷菌, 食中毒菌, 野菜, 堆肥化

はじめに

食品分野では法規制に基づき、原料、保蔵過程、加工工程において食中毒を防ぐための様々な策が打たれている。原料となる農産物のうち野菜については肥料や農薬の使用方法についての規定はあるが生産環境や生産物の食中毒検査や管理に係わる法令は無く、農林水産省 消費・安全局が平成 23 年 6 月に公表した「栽培から出荷までの野菜の衛生管理指針」¹⁾ 等に基づく、生産者や生産団体の自主的な努力に委ねられている。

我々は 2015 年より農水省の研究プロジェクトを通じ、

農業生産環境における食中毒菌の挙動を調べている。また、その中で農業生産環境が食中毒菌の損傷化に及ぼす影響について検討を行っている。これらの研究を通じ、農業生産環境の衛生管理に有効な手法の確立を目指している。

本稿ではこのプロジェクトで得られた成果の一部として乳牛ふんの堆肥化過程におけるサルモネラの挙動とトマト栽培環境におけるリステリアの挙動を損傷菌発生の有無と共に紹介する。

1. 堆肥化過程における食中毒菌の生残性と損傷化への影響

農林水産省の推計では国内で飼育している家畜は年間約

¹ 〒305-8519 茨城県つくば市観音台 3-1-1, ² 〒081-0038 北海道上川郡新得町字新得西 6 線 39 番地

³ 〒812-8581 福岡県福岡市東区箱崎 6-10-1, ⁴ 〒940-0826 新潟県長岡市長倉町 857

*連絡先 (Corresponding author), nkijima@affrc.go.jp

8 千万トンに及ぶ廃棄物を生み出していて、この量は国内で確保でき得るバイオマス資源の約 1/4 に相当する。資源の有効活用という観点から同省は積極的に農地への投入を奨めており、平成 28 年度の推計ではその 9 割が堆肥化等の処理を経て、農業生産環境に投入されているⁱⁱ⁾。畜産廃棄物に含まれる成分の有効利用や放置等による周辺環境への負荷を軽減するためにも有効な手段ではあるが、家畜ふんは潜在的な食中毒菌等の有害な微生物の汚染源とみなされる。そこで、野菜栽培環境への投入を想定した実規模堆肥化試験を行い、食中毒菌サルモネラの消長と損傷化への影響を調べた。堆肥化過程では堆積した畜産廃棄物中の微生物活性により物質代謝が進むと共に温度が上昇する。この温度上昇は一般的に有害な微生物の低減に繋がると考えられているが、はたして食中毒菌に対してどのような効果があるのかは未知数であった。そこで、我々は堆肥化過程における食中毒菌の消長を明らかにするため、野菜生産環境で用いられる一般的な規模の堆積堆肥を道総研・畜産試験場の堆肥化ヤードで調製し、堆肥に接種したサルモネラの消長を調べた。

1-1 封入体の開発

開放系で実施する堆肥化実験で特定の微生物を接種する際には、実施施設の職員の健康面を含め周辺環境への配慮が求められる。特にバイオセーフティーレベル 2 に相当するサルモネラを用いた実験では高い安全対策が求められる。海外でも畜産廃棄物の資源化過程における食中毒菌の挙動を調べた事例では¹⁾、袋状の容器に堆肥原料と食中毒菌を入れ、これを筒状の容器（直径 7.5 cm×長さ 30 cm）に封入し、埋設した例がある。しかしながら、食中毒菌の漏洩の有無に関しては結果が示されていない。そこで我々は耐水性、耐熱性、通気性を兼ね備えた素材として polytetrafluoroethylene（以下、PTFE）を選び、袋状の容器を作成し、この中に堆肥原料とサルモネラを入れ堆積堆肥の特定部位に埋設し、検討することを目指した。その性能として必要とされることは内部に接種したサルモネラが容器外へ漏洩せず同封した有機物の分解過程が内外で差が無いことである。

1-1-1

PTFE（ADVANTEC PF020）（15 cm×16 cm）の 3 辺を耐熱接着剤（フロント工販、FRONT#101, 19 mm）で接着した四角い袋を作成した（以下、PTFE bag）。さらに、この中に一回り小さい同様の PTFE bag（13 cm×14 cm）を入れた二層構造の PTFE bag も作成した（Fig. 1a）。

本素材は撥水素材であるが、保持粒子径が 2 μm であるため、菌体の漏洩を確認した。未圧着の 1 辺からパールコア緩衝ペプトン水（栄研）（以下、BPW）で培養したカラスのふんから分離した *Salmonella enterica* serovar Infantis 130408fujii 株（以下、SI）を 30 ml（ 3.0×10^9 CFU/ml）入れ、他の 3 辺と同様に接着した。この PTFE bag をラバポー

Fig. 1 Overview of PTFE bag and Microbial package

PTFE (polytetrafluoroethylene) bag was composed of two sheets of PTFE (15 cm×16 cm) which were sealed with heatproof adhesive tape at three sides (a). In case of double layered bag, smaller bag (13 cm×14 cm) was inserted into larger bag. Microbial package, mixture of feedstock and cell suspension of *Salmonella* were installed into residual open side and sealed by same way. For installing microbial package into piled feedstock, reinforced by four chips of polycarbonate bar at four edges and covered with net (b).

ト・パシリアディス培地（栄研）（以下、RV broth）で満たしたジッパー付きのポリエチレン袋に入れ、常温で放置し、経時的にポリエチレン袋内試料を、ノボピオシン（20 ppm）を含むパールコア DHL 寒天培地（栄研）（以下、nDHL）上に塗抹し、出現した黒色コロニーの確認を行った。

堆積堆肥に埋設する場合、下層への埋設には高い耐圧能が求められる。そこで、PTFE bag に SI を接種した 50 g の堆肥原料（50 g, 1.8×10^8 CFU/g）を入れ、ポリカーボネート板で 4 辺を補強し、全体にネットをかけた封入体を作成した（Fig. 1b, Microbial package）。これを 8 kg の堆肥を入れた 2 重のオートクレープバッグの底部に埋設した。これを 20 L のバケツに入れ約 4 m³ の堆積堆肥の底部に埋設し、経時的に掘り出し封入体内部の接種菌の定量分析および封入体の PTFE シート面の拭き取り検査を行った。

接種菌の定量分析は nDHL 上に出現した黒色コロニーを健常 SI として計数した。次に試料をパールコア トリプトソイ寒天培地（栄研）（以下、TSA）で蘇生培養を行った後、nDHL を重層し、出現した黒色コロニーを総 SI として計数し、両者の差を損傷 SI とした。拭き取り検査では試料を BPW および RV broth で増菌後に nDHL に塗布し出現した黒色コロニーの有無を確認した。

PTFE bag 内の有機物が外部と同様に分解されることを確認するため、牛ふん尿とオガクズの混合物（50 g）を詰め、約 4 m³ の堆積堆肥の底部（床）および上部（表面から 40 cm 深）に 4 週間埋設し、袋内の堆肥の pH および灰分含量を測定した。

1-1-2

一重の PTFE シートで PTFE bag を作成した場合、3 週

間目に浸漬した RV broth 中から供試菌が検出されたが、二重のシートで作成した PTFE bag では 4 週間目でも RV broth への接種菌の漏洩は確認できなかった (Table 1)。

次に 4m³ の堆積堆肥に埋設した封入体内の SI は試験期間を通じ、10⁷CFU/g 以上であったが、表面の拭き取り検査では検出限界以下であった (Table 2)。

PTFE bag 内に封入した堆肥原料と封入体外の堆肥原料が同様の分解プロセスを経るのかを確認するため、堆肥原料 50 g を二重の PTFE bag に封入し、前述と同規模の堆積堆肥の上部と底部に置き、4 週間経過した後の pH と灰分を比較すると、敷設した両方の封入体内外における差異は認められなかった (Fig. 2)。

二重の PTFE bag では 4 週間の試験期間中を通じ接種した SI が漏洩することはなかった。堆肥化実験での堆積期間は 3 週間を想定していたので実験には十分な性能と判断した。また、化学成分にも大きな差異は無くこの点でも

十分な性能であると判断した。

1-2 実規模堆肥化試験

前段の二重の PTFE bag で、SI を封入することが可能となったので、野菜栽培環境への投入を想定した実規模の堆肥化実験を行い、SI の消長を調べた。その際に選択培地による健常菌の検出と共に、非選択培地による蘇生培養を行い、損傷菌の検出も試みた。

1-2-1

道総研・畜産試験場の屋内堆肥化施設に乳牛ふんおよび副資材としてオガクズを混和 (水分 75%) し、施設内の作業ヤード (床面：コンクリート、奥壁：コンクリート、両壁：防水板) にスロープ状に堆積 (350 cm (W)×210 cm (D)×160 cm (H)) した。中央断面の壁から 40 cm の鉛直上に 80 cm 間隔で 3 箇所 (床、中心部、表層) に二重の PTFE bag に SI を接種した堆肥原料 (50 g) を詰めて 4 辺をポリカーボネート板で補強し、全体にネットをかけた封入体を埋設した。また、堆積中の各部位の温度を測定するため、中央断面には 40 cm メッシュで熱電対を 20 カ所敷設し 1 時間ごとに温度を計測した (Fig. 3)。堆積物は 3 週間堆積した後、埋設した封入体の回収、熱電対の撤収後、攪拌後

Table 1 Effect of layer number of PTFE bag on leakage of *Salmonella* *Infantis* from inside of bag to outside

Time (Week)	<i>Salmonella</i> in RV broth	
	Single layer	Double layer
1	—	—
2	—	—
3	+	—
4	+	—

Grown culture of *Salmonella enterica* serovar *Infantis* (SI) in TSB (3.0 × 10⁹ CFU/ml, 30 ml) in two type of PTFE bags (single layer and double layer) were dipped into RV broth at room temperature for the indicated period. Leakage of SI from inside of bag was confirmed by visual observation of black colony on nDHL after streaking enriched sample in both BPW and RV broth.

Table 2 Leakage of *Salmonella* *Infantis* from double layered bag in piled manure on actual scale

Time (Week)	Inside (CFU/g)	Outside (CFU/g)
0	1.8E+08	—
2	7.2E+07	—
4	4.0E+07	—

Double layered PTFE bag including *Salmonella enterica* serovar *Infantis* (SI) and organic matter (50 g) was placed at the bottom of piled manure. Population of SI in PTFE bag was determined by counting black colonies on nDHL. That of outside was determined by swabbing bag surface.

Fig. 2 Chemical property of organic matter in both side of PTFE bag

PTFE bags, including 50 g of organic matter (Feedstock, gray bar) were installed into different part of piled manure (upper and lower) for four weeks and were compared pH level (a) and Ash content (b) between outside (white bar) and inside (black bar) of PTFE bag.

Fig. 3 Installation diagram of microbial package in piled feedstock on actual scale

Piled feedstock (dairy cattle excrement and sawdust, 7 m³, 350 cm (W)×210 cm (D)×160 cm (H), water content 75 %) was placed on concrete floor and surrounded by concrete rear wall and two waterproof side walls at roofed indoor facility for manure research, Animal Research Center, Hokkaido Research Organization. There were 20 thermocouples and three microbial packages at central plane of piled feedstock (a). Thermocouples were installed at intersection of alphabetical row and numerical row (b). Microbial packages were installed into three different part of piled feedstock (b, A2: floor, C2: central part, E2: surface).

同様に堆積（切り返し）をするとともに、一部を次回の堆積時に埋設する封入体の堆肥原料とした。封入体にはSI菌液を接種した堆肥原料（50 g, 8.0–8.6 Log CFU/g on resuscitating medium）を詰めたものを各堆積時に調製した。試験期間中3回の切り返しを行い、計4回の堆積を行った。

回収した封入体内の接種菌は封入体開発時の性能確認と同様の手順で選択培地（nDHL）による健常SIの検出と蘇生培養による総SIの検出を行い、両者の差を損傷SIとした。また封入体回収時には封入体外へのSIの漏洩を確認するため、封入体のPTFEシート面の拭き取り検査を行った。

1-2-2

堆積堆肥は部位によって温度上昇パターンが異なり、中心部で高く、床や表層では温度上昇は緩慢であった。中心部の封入体を埋設した部位では実施した4回、全ての堆積

で50℃以上に達し、回収した封入体中の接種菌は検出限界以下となっていた。一方、温度上昇が緩慢だった床や表層では接種時に比べ菌数の減少は認められたが何れの堆積でも生残し、一部は損傷菌となった（Fig. 4）。

供試菌が堆肥化過程で損傷化せずに減少するためには50℃以上に上昇することが一つの条件と考えられる。4回の堆積で中心部またはその周辺では最高温度が50℃に達したが、床や表層では達しなかった。切り返し作業では、堆積物を混和し通気条件を改善することに加え、今まで床や表層にあった有機物が中心やその周辺に移動することにも繋がる。今回の実験では切り返し時に調製した封入体には毎回新たな供試菌を接種したため、一度の堆積で減少した菌量が次の堆積でどうなるのかは明らかにできていない。しかし、全ての部位で供試菌の増加が認められなかったことや、切り返しにより新たに高温に曝されることで堆積物全体として損傷菌を含めた菌量の低下に繋がると考えられる。

2. 野菜栽培環境におけるリステリアの挙動

リステリアは卓越した適応力で広く環境中に存在²⁾し、欧米各国で様々な食中毒を起こしている^{3)~7)}。厚生労働省の食中毒統計には報告されていないが、我が国では、唯一、北海道で2001年にソフトセミハードタイプチーズが原因のリステリア食中毒事例がある¹⁰⁾。一方、欧米ではリステリア食中毒が毎年発生し、重篤化し死者も出ていることからリスク管理において重要な食中毒菌であるとともに、その一部は生食用野菜が原因食品としても挙げられている。我が国の生食用野菜については、同一品目であっても栽培品種や栽培方法など異なる部分があるので、国内の栽培体系等を考慮し、状況を把握する必要がある。本稿では本城ら⁸⁾が報告したトマト栽培環境におけるリステリアの消長を紹介する。

これまでの国内におけるリステリアによる食中毒発生状況からみて、リステリアが国内の農業生産環境に広く普遍的に存在しているとは考えにくい。今後発生するのであれば、特定の経路で生産環境に混入し可食部汚染に至ると考えられる。そこで、不適切な手順で調製された堆肥等の有機質資材、灌水時の水、作業員や作業器具を通じた汚染などを想定し、トマトの土耕栽培を行い、土壌中でのリステリアの消長および可食部（果実）に接種したリステリアの消長を調べた。また、損傷化への影響を培地中のNaClに対する感受性の違いをもとに判定した⁹⁾¹⁰⁾。

2-1

供試菌株として、血清型の異なる3種類の *Listeria monocytogenes* (1/2a, 1/2b, or 4b) (以下, LM)¹¹⁾を用いた。それぞれの株をLB培地で培養し集菌、洗浄後、全てを混和しカクテルを作成し、オートクレーブしたトマト栽培土壌またはトマト果実表面に接種した。

トマト (*Solanum lycopersicum* cv. Micro-Tom) 種子を

Fig. 4 Population of *Salmonella* Infantis in piled feedstock

Microbial packages, feedstock (50 g) and cell suspension of *Salmonella enterica* serovar Infantis (SI) (8.0–8.6 Log CFU/g of feedstock) in PTFE bag were installed at three different part of piled feedstock on actual scale for three weeks. Installed three microbial packages were collected and analyzed SI population after three-week piling. Feedstock was mixed and piled again for consecutive piling. A part of mixed feedstock was used for preparation of new microbial packages. Totally these processes were repeated for three times (piled for four times). Population of SI was determined by cultivation on resuscitating medium (TSA and nDHL) as total SI (black bar) and on selective medium (nDHL) as intact SI (white bar). Differences between both number were estimated as injured SI.

70% エタノールおよび次亜塩素酸ナトリウムで表面殺菌し、上記の調製した土壌に播種した。これをグロースチャンバー内で16週間栽培し、経時的に土壌中のリステリアを検出した。

また、トマト表面でのLMの挙動を確認するため、トマト果実のヘタ近傍の表面に5μl (6 Log CFU/ml) 滴下し、後日滴下部分を切除し、定量した。

リステリアの定量はCHROMagar Listeria (CHROMagar™) と同培地にNaCl (4%) を添加したものをを用い前者で出現したコロニー数を総LMとして、後者で出現したコロニー数を健常LMとし、両者の差を損傷菌数とした。また、定性分析としてはHalf Fraser broth (Oxoid) および Fraser broth (oxoid) で増菌後CHROMagar Listeria に塗布し出現した陽性コロニーから特異的遺伝子断片の検出を行った。

2-2

土壌中に添加したLMは速やかに減少し、栽培2週目には生残した一部は損傷化することが明らかとなった。トマト収穫時の16週目の土壌ではLMは検出限界以下であったが、定性分析の結果、生残が確認され、長期間に亘り生残することが明らかになった (Fig. 5a)。バジル栽培環境では速やかにリステリアが減少することが報告されており¹²⁾、各品目の栽培環境における生残特性は一様ではなく、

品目ごとに精査することが必要であると思われる。

汚染土壌でトマトを栽培した場合でもトマト可食部（果実）へのリステリアの移行は確認されなかったが、果実表面に接種したLMは一定期間生残し、一部は損傷化していた (Fig. 5b)。

トマト栽培環境で長期間に亘りLMが生残することが示されたことで、堆肥等の投入資材と共に生産環境に混入することが長期間に亘り生産環境を汚染することに繋がると考えられる。

果実表面における汚染は作業員や器具との接触や灌水などが想定される。果実表面においても土壌中と同様に一定期間生残することから、作業員の健康管理や器具の衛生管理には十分留意する必要がある。また、灌水時の水については品質保持という観点からも可食部への灌水を避けることや、水質の管理に留意する必要がある。

3. おわりに

野菜生産環境に投入される家畜ふん堆肥については原料となる家畜ふんにサルモネラが含まれる場合であっても堆積中の微生物反応による温度上昇が低減に繋がる可能性が明らかになった。ただし、温度の上昇は堆積堆肥の中心部のみで、底部や表層における温度の上昇程度では十分な低減効果は期待できない。特にそれらの部位ではサルモネラは損傷化するため、通常の選択培地を用いた手法では過小評

Fig. 5 Population of *Listeria monocytogenes* in tomato cultivating environment

Bacterial cocktail including three different serotypes of *Listeria monocytogenes* (LM) was inoculated into sterilized soil (a, 6 log CFU/g) and onto surface of tomato fruits (b, 5 μ l of culture (6 log CFU/ml) was spotted). They were incubated for the indicated periods in the safety chamber and sampling was periodically carried out. Population of LM was determined by cultivation on both CHROMagar as total LM (●) and CHROMagar with NaCl (4%) as intact LM (○). Differences between both number were estimated as injured LM.

価に繋がることになる。サルモネラの損傷化は非選択培地による蘇生培養と通常の選択培地を用いた培養を併用することで検出は可能であるが、コストとその必要度については十分に検討する必要がある。堆肥化過程におけるサルモネラ低減のための技術的な対応策として切り返しの実施が考えられる。切り返しを実施することで、堆積中の有機物が確率的に中心部やその周辺になり、堆積堆肥全体の菌レベルの低減に繋がると考えられる。

次に生食用野菜の栽培段階におけるリステリアの消長として紹介した例では土壌は一度オートクレーブしたものをを用い、グロースチャンバー内で栽培を行った。無菌状態ではないが通常の栽培環境に比べ他の微生物の影響は少ないと考えられる。我々は本稿のトマト栽培環境のほかに未滅菌土壌を用いたアブラナ科野菜栽培環境、ウリ科野菜栽培環境や堆肥化過程を対象に検討を進めている。これら未滅菌の土壌や堆肥を用いた実験系では市販のリステリア用培地では接種したリステリアを特異的に検出することが困難であった。そこで、現在進行中の実験系では自然突然変異による薬剤耐性を付与した株を用いることで、薬剤存在下で NaCl に対する感受性の違いから損傷化の有無を確認している。培地中の NaCl 濃度の違いで損傷化の判定を行うことは可能であっても、農業生産環境中の試料を対象とし

た場合、他の常在菌の影響でリステリアの計数自体が容易ではない。そのため、新たなリステリア損傷菌の検出技術の開発が望まれる。

トマト栽培環境における土壌や果実表面にリステリアが付着した場合、長期間に亘り生残し、その一部は損傷化しているため、現時点では定性分析による存在確認が有効と考えられる。

これまでの実験結果からは具体的にどのようなストレスが損傷化を引き起こすのかは明らかではないが、通常の農業生産環境がリステリアを損傷化に導くストレスとなることだけは明らかである。これらの結果を踏まえ、栽培時に投入する堆肥等の有機質資材は生産環境へ投入する前段階で確実にリスクを低減することや栽培過程における管理体制として作業者と可食部の接触に伴うリスクや灌水用の水の管理には十分留意が必要と言える。

本研究は農林水産省「食品の安全性と動物衛生の向上のためのプロジェクト」のうち損傷菌の発生機序の解明と検出・制御技術の開発において実施したものである。

文 献

- 1) Patel, J.R., Yossa, I., Macarasin, D., and Millner, P. (2015). Physical covering for control of *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella* spp. in static and windrow composting processes. *Appl. Environ. Microbiol.* **81**, 2063–74.
- 2) NicAogáin, K. and O'Byrne, C.P. (2016). The Role of Stress and Stress Adaptations in Determining the Fate of the Bacterial Pathogen *Listeria monocytogenes* in the Food Chain. *Front. Microbiol.*, **7**, 1865.
- 3) Schlech, W.F. 3rd, Lavigne, P.M., Bortolussi, R.A., Allen, A.C., Haldane, E.V., Wort, A.J., Hightower, A.W., Johnson, S.E., King, S.H., Nicholls, E.S., and Broome, C.V. (1983). Epidemic listeriosis—evidence for transmission by food. *N. Engl. J. Med.*, **308**, 203–6.
- 4) Linnan, M.J., Mascola, L., Lou, X.D., Goulet, V., May, S., Salminen, C., Hird, D.W., Yonekura, M.L., Hayes, P., Weaver, R., Linnan, M.J., Mascola, L., Lou, X.D., Goulet, V., May, S., Salminen, C., Hird, D.W., Yonekura, M.L., Hayes, P., Weaver, R., Audurier, A., Plikaytis, B.D., Fannin, S.L., Kleks, A., and Broome, C.V. (1988). Epidemic listeriosis associated with Mexican-style cheese. *N. Engl. J. Med.*, **319**, 823–8.
- 5) Gilbert, R.J., McLauchlin, J., Velani, S.K. (1993). The contamination of pâté by *Listeria monocytogenes* in England and Wales in 1989 and 1990. *Epidemiol. Infect.*, **110**, 543–51.
- 6) Jacquet, C., Catimel, B., Brosch, R., Buchrieser, C., Dehaumont, P., Goulet, V., Lepoutre, A., Veit, P., and Rocourt, J. (1995). Investigations related to the epidemic strain involved in the French listeriosis outbreak in 1992. *Appl. Environ. Microbiol.*, **61**, 2242–6.
- 7) McCollum, J.T., Cronquist, A.B., Silk, B.J., Jackson, K.A., O'Connor, K.A., Cosgrove, S., Gossack, J.P., Parachini, S.S., Jain, N.S., Ettestad, P., Ibraheem, M., Cantu, V., Joshi, M., DuVernoy, T., Fogg, N.W. Jr, Gorny, J.R., Mogen, K.M., Spires, C., Teitell, P., Joseph, L.A., Tarr, C.L., Imanishi, M., Neil, K.P., Tauxe, R.V., and Mahon, B.E. (2013). Multistate outbreak of listeriosis associated with cantaloupe. *N. Engl. J. Med.*, **369**, 944–53.
- 8) Honjoh, K., Iwaizako, Y., Lin, Y., Kijima, N., and Miyamoto, T. (2016). Possibilities for Contamination of Tomato Fruit by *Listeria monocytogenes* during Cultivation. *Food Sci. Tech. Res.*, **22**, 349–57.
- 9) Smith, J.L. and Archer, D.L. (1988). Heat-induced injury in *Listeria monocytogenes*. *J. Industri. Microbiol.*, **3**, 105–110.
- 10) Jofré, A., Aymerich, T., Bover-Cid, S., and Garriga, M. (2010). Inactivation and recovery of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica* and *Staphylococcus aureus* after high pressure treatments up to 900 MPa. *Int. Microbiol.* **13**, 105–112.
- 11) Liu, P., Mizue, H., Fujihara, K., Kobayashi, H., Kamikado, H., Tanaka, K., Honjoh, K., and Miyamoto, T. (2012). A new rapid real-time PCR method for detection of *Listeria monocytogenes* targeting the *hlyA* gene. *Food Sci. Technol. Res.*, **18**, 47–57.
- 12) Chitarra, W., Decastelli, L., Garibaldi, A., and Gullino, M.L. (2014). Potential uptake of *Escherichia coli* O157: H7 and *Listeria monocytogenes* from growth substrate into leaves of salad plants and basil grown in soil irrigated with contaminated water. *Int. J. Food Microbiol.*, **189**, 139–145.

引用 URL

- i) http://www.maff.go.jp/j/syoutan/nouan/kome/k_yasai/ (2017.11.24)
- ii) http://www.maff.go.jp/j/chikusan/kankyo/taisaku/t_mondai/02_kanri/ (2017.11.24)
- iii) <http://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-11130500-Shokuhinanzenshu/0000070322.pdf> (2017.11.24)

(平成 29 年 12 月 8 日受理)