

## セレウス菌が検出された集団食中毒事例及び 有症事例の検査概要

竹原 佑美    池田 伸代    清水 裕美子    青田 達明  
千神 彩香    栗林 智早    京塚 明美    坂本 綾  
松室 信宏

### はじめに

*Bacillus cereus*(以下 *B. cereus*)は、グラム陽性、通性嫌気性の芽胞形成桿菌である。環境細菌の一つであり、土壌・水中などの自然環境や農産物や飼料の他に、動物や人の消化管等広く分布し、一部の菌は食中毒の起因菌となる。本邦の食中毒事例の中で *B. cereus* が起因菌である割合は、平成23年～27年において0.18%～0.94%と少ない<sup>1)</sup>。*B. cereus* による食中毒は主に穀類及び穀類加工品を原因食品とし、臨床症状により嘔吐型と下痢型に分類され、嘔吐型の潜伏時間は0.5～5時間、下痢型は8～16時間であり、我が国ではほとんどが嘔吐型食中毒である<sup>2), 3)</sup>。今回、*B. cereus* が分離された集団事例を2事例経験したので、その検査概要を報告する。

### 方 法

#### 1 事例概要

2事例の概要を表1に示した。

#### 2 検査材料

広島市保健所食品保健課により搬入された下記検体について、食中毒菌の検査を常法に準じて実施した。

事例1では、患者嘔吐物2検体、患者便4検体、従事者便2検体、食品5検体、調理場等ふきとり

表1 事例概要

	事例1	事例2
喫食日	平成28年7月29日	平成28年7月30日
喫食場所	飲食店A	飲食店B
喫食グループ数	2	1
発症者/喫食者	7/7, 2/2	7/19
症状	嘔吐 100%	嘔吐 14%
	下痢 33%	下痢 100%
		腹痛 43%
喫食から発症までの平均時間	1時間22分	14時間55分

10検体を供試した。事例2では、患者便7検体、従事者便1検体、調理場等ふきとり10検体を供試した。

#### 3 セレウス菌の分離同定試験

セレウス菌の分離には NGKG 寒天培地(ニッスイ)を用いた。生化学性状試験として、VP 反応及び、サッカロース、サリシン、エスクリン、マンノース、セロビオースの糖分解能試験は api50CHB と api20E(シスメックス)を用いた。レンチナーゼ反応試験は NGKG 寒天培地を用い、ウレアーゼ産生試験はクリステンゼン尿素培地(栄研化学)を用い、デンプン分解能試験は api50CHB と 1%デンプン(和光純薬)加普通寒天培地(ニッスイ)を用いて実施した。

#### 4 毒素確認試験

嘔吐毒については、セレウリド合成酵素(以下 CRS)遺伝子検査は *Bacillus cereus*(CRS gene)PCR Detection Kit(Takara)を用いた。事例1については、セレウリド産生能の確認を Hughes ら<sup>4)</sup>の方法を参考として、HEp-2 細胞によるバイオアッセイを実施した。下痢毒(HBL)産生能試験は CREST-RPLA 生研(デンカ生研)を用いて実施した。

### 結 果

#### 1 事例1の検査結果

食中毒菌の検索を行ったが、*B. cereus* 以外の有意菌は検出されなかった。患者嘔吐物2検体、患者便1検体、食品1検体(ラザニア)、調理場等ふきとり4検体から *B. cereus* が分離された(表2)。

CRS 遺伝子検査の結果、患者嘔吐物、食品、調理場等ふきとりから分離された菌株が CRS 遺伝子陽性であった。HEp-2 細胞によるバイオアッセイでも、CRS 遺伝子陽性株は、全て細胞の空胞化変性を認めた(図1, 図2, 図3)。生化学性状、HBL 産生性、セレウリド産生性に差異はみられず、同一菌と考えられたことから、この事例が *B. cereus* を原因とする嘔吐毒の食中毒事例であることを支持する結果であった。

#### 2 事例2の検査結果

食中毒菌の検索を行ったが、*B. cereus* 以外の有意菌は検出されなかった。喫食残品はなく検査できなかったが、患者便3検体、従事者便1検体、調理場等ふきとり5検体から *B. cereus* が分離された(表3)。

患者便から分離された菌株は生化学的性状が一致していたが、CRS 遺伝子検査及びHBL産生能とも認められなかった。一方、従事者便及び調理場等ふきとり検体から分離された菌株はHBL産生能が認められたが、生化学性状が患者由来株とは異

なっていることなどから、原因菌の特定には至らなかった。今回、非溶血性エンテロトキシン(以下Nhe)等の他の下痢毒病原因子については検査が行えていないが、Nheも *B. cereus* 菌株の多くが産生することが報告されており<sup>5), 6)</sup>、本事例では、原因菌特定の為の確定的な検査とらないと考えた。

謝 辞

集団事例の調査概要を提供いただいた本市保健所食品保健課に深謝いたします。

表2 事例1(集団嘔吐症例)から分離された *B. cereus* の性状

検体	菌株 No.	セレウリド		HBL産生能	レシチナーゼ	ウレアーゼ	デンプン	VP	サッカロース	サリシン	エスクリン	マンノース	セロビオース	小佐々らの生物型	
		CRS遺伝子	空胞化変性												
患者	A	①	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	型不明
		①	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	型不明
嘔吐物	B	②	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	型不明
		③	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	型不明
患者便	A	①	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	型不明
		②	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	型不明
		③	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	型不明
食品	ラザニア	①	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	型不明
調理場等	従事者の手	①	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	型不明
	作業台	②	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	型不明
ふき取り	冷蔵庫取手①	③	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	型不明
	冷蔵庫取手②	④	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	型不明

表3 事例2(集団下痢症例)から分離された *B. cereus* の性状

検体	菌株 No.	CRS遺伝子	HBL産生能	レシチナーゼ	ウレアーゼ	デンプン	VP	サッカロース	サリシン	エスクリン	マンノース	セロビオース	小佐々らの生物型	
														患者便
	B	①	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	V
	C	①	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	V
従事者便	A	①	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	VII
調理場等	包丁	①	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	VII
	冷蔵庫	①	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	VII
		①	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	VII
ふき取り	シンク・手洗い	②	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	型不明
		③	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	VII
		④	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	VII
コンロ		①	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	VII
		②	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	型不明
生野菜用タッパー		①	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	型不明

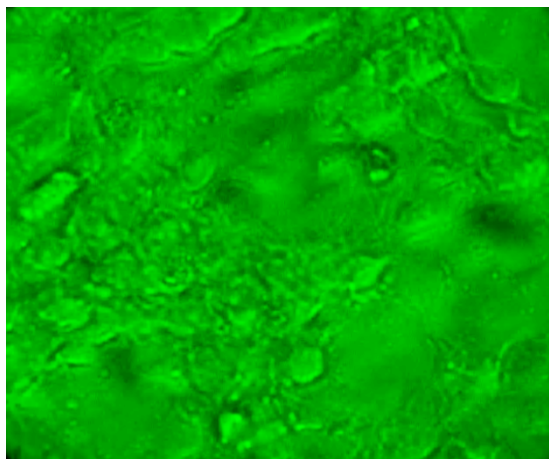


図1 HEp-2細胞によるセレウリド試験  
CRS遺伝子陰性株(空胞化変性認めず)

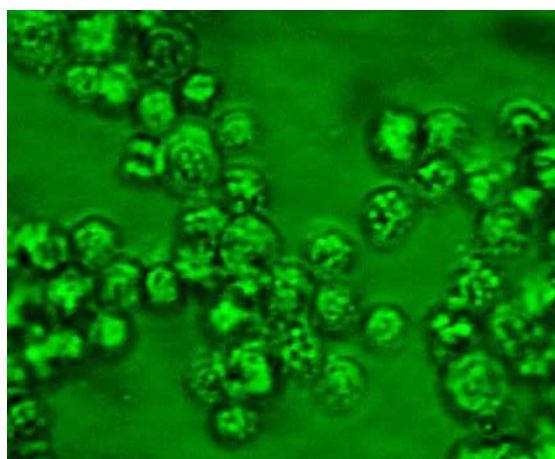


図2 HEp-2細胞によるセレウリド試験  
CRS遺伝子陽性株(空胞化変性認めた)

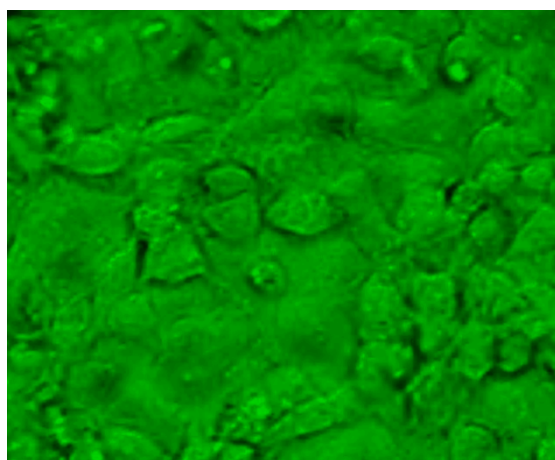


図3 HEp-2細胞によるセレウリド試験  
陰性コントロール(菌未接種液体培地上清を添加し細胞培養)

## 文 献

- 1) 厚生労働省：食中毒事件一覧速報  
[http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou\\_iryuu/shokuhin/syokuchu/04.html](http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/syokuchu/04.html)
- 2) 石村勝之 他：*B. cereus*食中毒について-焼飯による食中毒事例および米飯への汚染-, 広島市衛生研究所年報, 3, 42~48(1983)
- 3) 河合高生 他：2 *Bacillus cereus*, 食品由来感染症と食品微生物, 439~455(2009)
- 4) Hughes S et al. : Potential application of a HEp-2 cell assay in the investigation of *Bacillus cereus* emetic-syndrome food poisoning, FEMS Microbiol Letters, 52, 7~12(1988)
- 5) 小川恵子 他：セレウス菌の下痢毒及び嘔吐毒検査法の検討, 北海道衛生研究所年報, 64, 49~54(2014)
- 6) Maria-Elisabeth Böhm et al. : Massive horizontal gene transfer strictly vertical inheritance and ancient duplications differentially shape the evolution of *Bacillus cereus* enterotoxin operons *hbl cytK* and *nhe*, BMC Evolutionary Biology, 246(2015)