



国際酪農連盟日本国内委員会

Japanese National Committee of International Dairy Federation



IDF ホームページ / <http://www.fil-idf.org/> / ファクトシートより

乳および乳製品中の *Bacillus cereus* (セレウス菌)

IDF ファクトシート - 2016 年 12 月

乳および乳製品中の *Bacillus cereus* (セレウス菌)

Bacillus 属は *Bacillaceae* 科の中で最大の属で、環境中に広く分布し、一般的に土壌、大気、水、動植物から分離される腐生菌であり、少なくとも 226 種からなる。

Bacillus 種の大部分は共生しており、ヒトまたは動物の疾患と関連することはめったにない（いくつかの種はプロバイオティクスまたは添加物として使用され、他の種は食品腐敗の原因として知られている）。主にこれらと異なるのが、医学的に重要な種を含むセレウス菌のグループのメンバーであり、それがこの報告書の焦点でもある。ただし、乳製品と関連していない動物性病原体である *Bacillus anthracis* は、この概要から除外されていることに留意してほしい。

細菌的特徴

セレウス菌のグループは主に 8 種の種からなる：*Bacillus anthracis*、*Bacillus pseudomycoloides*、*Bacillus mycoloides*、*Bacillus thuringiensis*、*Bacillus weihenstephanensis*、*Bacillus cytotoxicus*、*Bacillus toyonensis*、*Bacillus cereus sensu stricto*。これらの種のほとんどは、たとえ 16s rDNA 塩基配列であっても区別するのが非常に困難である。

セレウス菌グループは、随意に運動性があり、芽胞を有する通性嫌気性の腐生菌で、グラム陽性細菌である。いくつかは食品病原菌であり、下痢型および嘔吐型の食中毒を引き起こす危険性がある。生乳中に存在する場合、それらの芽胞は低温殺菌の工程でも生存することができ、増殖特性を有するため製品を汚染することがある。

- 増殖温度：至適温度は 30~37°C だが、種によっては 4°C から、あるいは 50°C 以下でも生存できる。
- pH 範囲：4.3 から 9.3 という広い範囲の pH 域で増殖する。
- 水分活性範囲：0.912 から 0.995 の範囲で増殖する。

このグループのいくつかの種は非病原性であるように思われる：

Bacillus thuringiensis は、生物防除剤として使用される昆虫病原体として知られている。*Bacillus weihenstephanensis*、*Bacillus pseudomycoloides*、*Bacillus mycoloides* はこれまでに食中毒病原体として記載されていない。*Bacillus toyonensis* は飼料添加物として使用される。



国際酪農連盟日本国内委員会

Japanese National Committee of International Dairy Federation



IDF ホームページ / <http://www.fil-idf.org/> / ファクトシートより

汚染源

セレウス菌グループの多くは土壌中に孢子の状態に偏在している。それらはまた、サイレージ、排泄物や敷きワラからも大量に見出される。人獣共通感染症の原因ではないが、環境中での存在性が高いため、牛を含む動物によって運ばれる可能性がある。衛生管理が十分でない状態での搾乳中に生乳に混入する可能性があり、ごくまれなケースでは、いくつかの菌株が乳房炎を引き起こすことがある。

加熱殺菌はセレウス菌グループの芽胞形成を誘導し、その後芽胞は低温殺菌工程で生残することができるため、乳製品を汚染し、品質および安全面で問題を引き起こす。

Bacillus cereus sensu stricto は事実上すべてのカテゴリーの食品で確認されている。しかし、食中毒に関与する主な食品は加熱処理されたものであり、嘔吐型は米やパスタ、下痢型はパスタが主である。

病気の頻度および重症度

セレウス菌は嘔吐型食中毒および下痢型食中毒の 2 種類の食物媒介性疾患の原因となる。*Bacillus cereus sensu stricto*、*Bacillus cytotoxicus* およびいくつかの *Bacillus* 種は、食物による疾患を引き起こす可能性があることが疫学的に明らかになっている。しかし、これらの種の中に食物媒介性の病原体はない。他の *Bacillus* 種の病原性のメカニズムについてはほとんど知られていない。他の *Bacillus* 種に起因する食中毒症は、食物中の多数の細胞/芽胞に常に関連している (10^6 cfu / g 以上)。

Bacillus cereus sensu stricto による乳および乳製品の汚染に関するデータはほとんどない。利用可能なデータは、栄養細胞および芽胞の存在を示しており、生乳中に $10^2 \sim 10^3$ (芽胞数/L) 存在する。

芽胞はまた、殺菌乳のような最終製品、ならびに UHT 処理したミルクパウダー ($10^2 \sim 10^3$ 芽胞数/g)、およびチェダーチーズ等 ($10^2 \sim 10^3$ cfu/g) から検出される。

嘔気症候群は、嘔吐毒素またはセレウリドによって引き起こされる。それらは、熱に対して高い耐性があり (126°C で 90 分)、非常に安定しており (4°C で少なくとも 2 カ月)、pH 耐性 ($2 \leq \text{pH} \leq 11$)、たんぱく質分解酵素にも耐性がある。それらは食物の中であらかじめ形成されているため、調理または消化によって破壊されることがない。嘔吐毒素の発症量は、体重 1kg 当たり 8mg である。食品中に *Bacillus cereus sensu stricto* の細胞が $10^5 \sim 10^6$ 個含まれている場合、潜在的に危険であると考えられる。



国際酪農連盟日本国内委員会

Japanese National Committee of International Dairy Federation



IDF ホームページ / <http://www.fil-idf.org/> / ファクトシートより

下痢症候群は、3つの細菌毒素によって引き起こされる。HBL、Nhe および CYTK が、腸管内で多数の細胞または芽胞が摂取されることによって形成される。エンテロトキシンは熱に不安定であり、酸性条件またはたんぱく質分解に敏感である。それらは調理中または胃腸消化中に破壊される。少なくとも $10^3 \sim 10^5$ cfu を含む食品は、消化によって破壊されないほど多くの細胞を提供し、その結果宿主の腸内に定着し、病気を発症するのに十分な量のエンテロトキシンを生成する。*Bacillus cereus sensu stricto* に起因する食中毒で、致命的になることはまずないが、*Bacillus cytotoxicus* および嘔吐型の *Bacillus cereus sensu stricto* が起因したことがある。

検査法

セレウス菌のグループを検出し算出する方法 (ISO 7932, ISO 21871) はあるが、その方法は毒素を産生する細菌の能力を示すものではないことに注意する必要がある (セレウス菌のグループで病気に関連していない種と *Bacillus cereus sensu stricto* を見分けるのは困難である)。いくつかの種を区別するために、特定の遺伝子 (*Bacillus anthracis*) または遺伝子サイン (*Bacillus weihenstephanensis*) を使用する遺伝的方法が存在する。さらに、*Bacillus thuringiensis*、*Bacillus mycoides*、および *Bacillus pseudomycooides* には、視覚的または顕微鏡的観察で、*Bacillus cytotoxicus* は最大増殖温度を用いることで特定が可能である。

毒素および毒素を生成する菌株の特徴を検出するための方法は存在するが、標準化されておらず、ルーチンとして使用されることはない。

規制

いくつかの行政ではセレウス菌グループの食品安全限界を設定しており、乳製品の場合、一般消費者で 10^3 cfu / g、幼児用で 10^2 cfu / g を安全限界としている。一方で多くの国がセレウス菌グループに対して基準を設けていない。基準が存在する場合、幼児や「危険にさらされている」消費者が消費することになっている製品に限定される傾向がある。

2007年の European Regulation No. 2073/2005 の改訂版には、6カ月未満の乳児のための調製粉乳および乾燥食品の微生物学的プロセスの衛生基準の中にセレウス菌グループが含まれている。(n=5; c=1; m=50 cfu/g; M=500 cfu/g)

ヨーロッパでは、乳および乳製品のセレウス菌グループに関する特別な規制はない。ただし、乳児用調製粉乳を製造する乳業会社は、一般に、セレウス菌グループの菌株に $100\text{cfu} / \text{g}$ 未満の仕様を設けている。この条件を満たすため、原乳はセレウス菌グループについて $10\text{cfu} / \text{ml}$ と低くすべきである。この低い数値をすばやく決定する方法は存在しない。



国際酪農連盟日本国内委員会

Japanese National Committee of International Dairy Federation



IDF ホームページ / <http://www.fil-idf.org/> / ファクトシートより

予防方法

セレウス菌グループは、そのほとんどの原材料中に孢子の形態で存在している。最初に食物の汚染を最小限に抑えることが、セレウス菌グループの危険なレベル ($10^3 \sim 10^5$ cfu/g) への増殖を避ける最善の手段でもある。

牛乳生産時

搾乳時における生乳の汚染を減らすには、搾乳時の十分な衛生管理と装置のメンテナンス（搾乳、牛乳の保管）の手順が不可欠である。衛生規則に厳しく従うことで、環境中に細菌が大量に存在したとしても、汚染のリスクを制御することが可能である。

製造時

汚染された乳房もしくは搾乳装置に由来するセレウス菌グループの芽胞は、乳製品の製造時に使用される原乳に容易に侵入するだけでなく、その耐熱性のために低温殺菌工程では生残してしまう。従って、セレウス菌グループの増殖を制御し、毒素形成を可能にする危険なレベルに達するのを防ぐために、生乳の取扱いや乳製品の処理条件（温度、時間）を管理しなくてはならない。これは、農場での汚染レベルを低くし、製品を処理または保管する際に増殖の機会を減らすことで可能となる。

主な制御手段は、温度管理をし、HACCP システムを確立することである。低酸性食品の缶詰に使用される熱処理のみが、セレウス菌の芽胞の完全な破壊を確実にする。UHT 牛乳の場合、 140°C で 1~2 秒間加熱することでほとんどの孢子を不活性化することができる。缶詰や UHT ミルク以外の加工食品中の孢子の数は、機器の適切な洗浄と消毒によって出来る限り低く抑えなければならない。セレウス菌の芽胞の発芽および成長を防ぐためには急速冷却もまた有効である。低い pH (4.5 未満)、水分活性の低減 (0.92 未満) はセレウス菌の成長を阻害するであろう。他の方法として、好冷菌を含むすべてのタイプのセレウス菌の増殖を防ぐために、 4°C 以下の冷却が必要である。しかし、 $4 \sim 10^\circ\text{C}$ の間でも、他の要因（すなわち、食物の pH、水分活性または栄養素含量）がセレウス菌に最適でなければ、成長の遅れおよび成長時間は大きく延長する。これは微生物学的試験によって確認されるべきである。セレウス菌に適用された防除手段は、他のセレウス菌グループの防除にも適用できる。（EFSA, 2005）

生乳中に存在するセレウス菌グループの増殖は、処理装置の表面に形成されたバイオフィームによって、製造中に起こりうる。生残可能な孢子を含むバイオフィームは、製造工程中のプロセスから除去することは困難である。生残した孢子の発芽は、さら



国際酪農連盟日本国内委員会

Japanese National Committee of International Dairy Federation



IDF ホームページ / <http://www.fil-idf.org/> / ファクトシートより

なる細胞増殖および乳製品の汚染をもたらす可能性がある。例えば、低温殺菌乳やスプレードライミルクの汚染の増加は、低温殺菌および乾燥装置で生残したセレウス菌グループによって起こった可能性がある。

製品の調合および管理

製品の製造に使用される成分、製品の調合、製造工程等を変更することによって、従来の製品に存在するセレウス菌グループの食品安全性のリスクを高める危険性がある。例えば、従来の食品における微生物の増殖を軽減/排除するための配合を変更すること（例えば pH、水分もしくは塩濃度の変更等）は、場合によっては、毒素形成という点でのセレウス菌グループの成長を助長する可能性がある。そのため、従来の製品の製造工程を変更する際には注意が必要である。

References

- Andersson A, Ronner U and Granum PE, 1995. What problems does the food industry have with the spore-forming pathogens *Bacillus cereus* and *Clostridium perfringens*? *International Journal of Food Microbiology*, 28, 145–155.
- Arnesen, L. P. S., Fagerlund, A. & Granum, P. E. From soil to gut: *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins. *Fems Microbiol Rev*, 2008, 32 (4), 579-606 doi:10.1111/j.1574-6976.2008.00112.x
- Christiansson, A., Bertilsson, J. & Svensson, B. *Bacillus cereus* spores in raw milk: Factors affecting the contamination of milk during the grazing period. *J DairySci*, 1999, 82, 305-314.
- Dierick K, et al. 2005. Fatal family outbreak of *Bacillus cereus*-associated food poisoning. *J. Clin. Microbiol.* 43:4277– 4279.
- EFSA Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards on *Bacillus cereus* and other *Bacillus* spp. in foodstuffs. (Question N° EFSA-Q-2004-010). *EFSA J* (2005) 175, 1-48 EFSA.
- EFSA Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards on risks for public health related to the presence of *Bacillus cereus* and other *Bacillus* spp. Including *Bacillus thuringiensis* in food stuffs (Question N° EFSA- Q- 2015- 00254). *EFSA J* (2016).
- Guinebretiere, M. H. & Sanchis, V. *Bacillus cereus sensu lato*. *Bull Société Française Microbiol*, 2003, 18, 95-103
- Guinebretiere, M. H. et al. Ecological diversification in the *Bacillus cereus* group. *Environmental Microbiology* 2008, 10, 851-865, doi:10.1111/j.1462-2920.2007.01495.
- Guinebretière M, Auger S, Galleron N, Contzen M, De Sarrau B, De Buyser M, Lamberet G, Fagerlund A, Granum P, Lereclus D, De Vos P, Nguyen-The C, Sorokin A. *Bacillus cytotoxicus* sp. nov. is a novel thermotolerant species of the *Bacillus cereus* group occasionally associated with food poisoning *Int J Syst Evol Microbiol* 2013, 63(1):31-40
- Magnusson, M., Christiansson, A. & Svensson, B. *Bacillus cereus* spores during housing of dairy cows: Factors affecting contamination of raw milk. *J Dairy Sci*, 2007, 90(6), 2745-2754, doi:10.3168/jds.2006-754.
- María Naranjo, Sarah Denayer, Nadine Botteldoorn, Laurence Delbrassinne, Jean Veys, Jacques Waegenaere, Nicolas Sirtaine, Ronald B. Driesen, Karin R. Sipido, Jacques Mahillon, and Katelijne Dierick Sudden death of a young adult associated with *Bacillus cereus* food poisoning *J. Clin. Microbiol.* December 2011 49:12 4379-4381.



国際酪農連盟日本国内委員会

Japanese National Committee of International Dairy Federation



IDF ホームページ / <http://www.fil-idf.org/> ファクトシートより

Svensson, B., Ekelund, K., Ogura, H. & Christiansson, A. Characterisation of Bacillus cereus isolated from milk silo tanks at eight different dairy plants. International Dairy Journal 14, 17-27 (2004).

翻訳：JIDF 微生物・衛生専門部会（大嶋）

编者注：仮訳の正確性、完全性、有用性等についてはいかなる保証をするものではありません。参考資料として扱い、内容に疑義が生じた場合は英文の原文をご確認ください。