

各種食品のセレウス菌汚染状況と分離菌株の嘔吐毒産生性

新井 輝義^a, 千葉 隆司^a, 秋場 哲哉^b, 門間 千枝^a, 仲真 晶子^a, 甲斐 明美^c

市場に流通する各種食材, 加工食品, 調理食品等4,977検体を対象に, 嘔吐型食中毒の原因物質の一つである嘔吐毒(セレウリド)産生性セレウス菌の汚染状況を調査した. 全検体におけるセレウス菌汚染率は10.2%であり, 汚染菌数 10^4 CFU/g以上の食品群は農産食品, 農産加工食品, 惣菜, パン類・菓子類, 複合調理食品等であった.

これらの検体から分離された1,436株のセレウス菌のうち880株(61.3%)が澱粉分解(+)株であり, 無作為に抽出した311株, および澱粉分解(-)株556株を対象に, セレウリドの産生性を確認するためにHEp-2細胞を用いたパイオアッセイおよびセレウリド合成酵素遺伝子(CRS 遺伝子)の保有状況を調べた. その結果, 澱粉分解(+)株はすべてセレウリド非産生であり, CRS遺伝子を保有していなかった. 一方, 澱粉分解(-)株556株のうち70株がセレウリドを産生し, かつ, CRS遺伝子を保有していた. セレウリド産生株の鞭毛抗原型はG1, G3, G12等であり, 嘔吐型食中毒の起因株として報告のある型であった. これらの菌株が検出された食品は, あん・豆乳・腐乳等豆類の加工品5検体, 惣菜の煮物・焼き物・蒸し物・炒め物等4検体, 調味料等24検体およびその他の食品2検体であった.

キーワード: セレウス菌, 嘔吐毒素, 澱粉分解性, セレウリド, セレウリド合成酵素遺伝子, CRS 遺伝子

はじめに

本邦におけるセレウス菌(*Bacillus cereus*)食中毒は嘔吐型によるものが大半であり, 事件数は年間20件未満と少ないが, 患者数は1991年の2,364人をはじめ, 多い年では700人を超え^{1,2)}, 原因食品としては米飯類, スパゲッティ等が多い^{3,4)}. 本菌は土壌をはじめ, 食品に広く分布し⁵⁻⁸⁾, 耐熱性芽胞を形成する^{6,9-12)}. そのため食材の汚染菌が調理後も生残し, 喫食するまでの保管が不適切な場合には増殖し, 汚染菌が嘔吐毒産生菌であれば, 食中毒の原因となる. 著者らは, 市場に流通する各種食材, 加工食品, 調理食品等を対象に, セレウス菌による汚染状況を調査するとともに, 分離菌株の嘔吐毒(以下セレウリドと称する)産生性について検討したので, その成績を報告する.

実験方法

1. 調査対象

1998~2006年に都内の市場に流通した食品4,977検体を供試した.

2. 試料の調製

各検体25 gに希釈液225 mLを加え10倍乳剤とし, 試料とした.

3. 生菌数の測定

試料およびその10倍階段希釈試料1 mLを標準寒天にて

混釈し, 35°Cで2日間培養し形成された集落数を算定した.

4. セレウス菌の分離と菌数測定

試料およびその10倍階段希釈試料0.2 mLをMYP寒天培地(日水製薬)に塗抹し, 35°Cで20時間培養し, 卵黄反応陽性, マンニト非分解で灰色ワックス状集落をセレウス菌として算定し, 3集落を目安として普通寒天斜面培地に接種し, 35°Cで一晩培養後室温にて保存した. 一週間後, 斜面に形成された菌苔についてガラス板塗抹標本を作成し, Amido Black染色液(Amido Black 10B(和光純薬): 1.5 g, 98%Ethanol: 50 mL, 氷酢酸: 10 mL, 精製水: 40 mL)で加温染色後, 鏡検により芽胞の形成と結晶蛋白の有無を確認して*Bacillus thuringiensis*(*B. cereus*は結晶蛋白無し, *Bacillus thuringiensis*は有り)を除いた. また, 普通寒天に可溶性澱粉(和光純薬)を1%濃度に加えた平板培地に供試菌を接種し, 35°Cで18時間培養後, 菌苔形成下部にルゴール液を反応させ澱粉分解性試験を行った.

5. セレウリド測定試料の作成

Hughesら¹³⁾および安形ら¹⁴⁾の方法を参考とし, 中試験管に5 mL分注したBHIブイヨン(Difco)に供試株を接種し, 35°C, 100 rpmで1晩振とう培養し, その50 μ Lを10%濃度スキムミルク培地50 mLに接種し, 30°C, 100 rpmで24時間振とう培養した. 得られた培養菌液を3,000 rpm(2,000G), 10分間遠心分離後, 上清をメンブランフィルター(ポアサ

^a 東京都健康安全研究センター微生物部食品微生物研究科
169-0073 東京都新宿区百人町 3-24-1

^b 東京都健康安全研究センター微生物部ウイルス研究科
169-0073 東京都新宿区百人町 3-24-1

^c 東京都健康安全研究センター微生物部
169-0073 東京都新宿区百人町 3-24-1

イズ0.45 µm) で濾過し、100°C、10分間加熱したものをセレウリド測定用試料とした。また、菌を接種せず、同様に処理したものを陰性対照とした。

6. HEp-2細胞によるセレウリド確認試験 (バイオアッセイ)

Hughesら¹³⁾の報告に準拠して行った。96穴マイクロプレートにてセレウリド測定試料25 µLをリン酸緩衝生理食塩水 (Dulbecco's PBS(-): 日水) で2倍階段希釈を行い1倍～128倍液を作製した。この各ウェルにHEp-2培養細胞液100 µLを加え各ウェルでの試料液の最終希釈倍率を5倍～640倍とし、5%CO₂存在下で37°C、24時間培養後、倒立型顕微鏡でHEp-2細胞の空胞化変性の有無を観察した。セレウリドに対し特異的な空胞化変性が認められたウェルの最終希釈倍数を空胞化活性の力価とした。

7. 比色法によるバイオアッセイの補完

秋場ら¹⁵⁾の報告に従ってHEp-2培養細胞の空胞化変性を判定後、更に24時間培養を継続し、各ウェルに2-(2-methoxy-4-nitrophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-(2,4-disulfo-phenyl)-2H-Tetrazolium, monosodium salt (WST-8)を50 µL添加し、37°C 4時間インキュベート後、450 nmの吸光度を測定し、細胞の活性低下を判定した。

8. LC-MSによるセレウリドの定量

バイオアッセイによりセレウリド産生が確認された測定試料について、千葉ら¹⁶⁾の報告に従ってLC-MS法によりセレウリドの定量を行った。

9. セレウリド合成酵素遺伝子の検出

普通寒天培養菌苔をDWに懸濁し沸騰水中で10分間加熱抽出してPCR反作用テンプレートを作成した。各テンプレートについて*Bacillus cereus* (CRS gene) PCR Detection Kit (タカラバイオ) を使用したPCR法によりセレウリド合成酵素遺伝子 (以下CRS遺伝子という) の有無を調べた。操作法はキットの添付資料に従った。

10. 鞭毛抗原型別

Taylor & Gilbert¹⁷⁾および寺山ら⁵⁾の報告に従い鞭毛抗原の型別を行った。

結果及び考察

調査対象食品の分類は大分類15群、小分類47群とする東京都の食品衛生関係苦情処理集計表¹⁸⁾に準拠した。表1に大分類による15食品群のセレウス菌数の分布を階級別に表示した。セレウス菌を検出した食品は4,977検体中510検体で、汚染率は10.2%であった。各食品群のセレウス菌汚染状況を概観すると菌数10⁴ CFU/g以上の食品の多い食品群は農

表1. 食品からのセレウス菌検出状況

大分類	供試 検体数	セレウス菌検出 検体数 (%)	セレウス菌数の分布：検体数					
			10 ³ 未満*	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	
1 水産食品	3	0 (0.0)						
2 水産加工食品	114	14 (12.3)	14					
3 畜産食品	2	0 (0.0)						
4 畜産加工食品	42	3 (7.1)	2	1				
5 その他の動物性食品	7	3 (42.9)	3					
6 農産食品	34	17 (50.0)	12	4	1			
7 農産加工食品	1158	152 (13.1)	120	24	4	2	2	
8 惣菜	1113	52 (4.7)	44	6	2			
9 惣菜半製品	7	2 (28.6)	2					
10 パン類・菓子類	707	37 (5.2)	31	3	1	2		
11 飲料	59	4 (6.8)	4					
12 油脂	9	0 (0.0)						
13 複合調理食品	360	7 (1.9)	5	0	2			
14 その他の食料品	1355	219 (16.2)	187	27	5			
15 食品添加物	7	0 (0.0)						
合計数	4977	510 (10.2)	424	65	15	4	2	

* CFU/g

表2. 分離されたセレウス菌株の澱粉分解性およびセレウリド産生性

大分類	セレウス菌 検出 検体 数	分離株の澱粉分解性			バイオアッセイ及びCRS遺伝子保有確認試験						
		分離 株数	澱粉 分解 (+) 株数	澱粉 分解 (-) 株数	澱粉分解 (+) 株			澱粉分解 (-) 株			
					供試 株数	バイオ アッセ イ陽性 株数	CRS 遺伝子 保有 菌株数	供試 株数	バイオ アッセ イ陽性 株数	CRS 遺伝子 保有 菌株数	
2	水産加工食品	14	31	15	16	6	0	0	16	0	0
4	畜産加工食品	3	12	10	2	3	0	0	2	0	0
5	その他の動物性食品	3	7	7	0	0	0	0	0	0	0
6	農産食品	17	45	42	3	0	0	0	3	0	0
7	農産加工食品	152	414	259	155	76	0	0	155	18	18
8	惣菜	52	140	93	47	37	0	0	47	9	9
9	惣菜半製品	2	4	4	0	0	0	0	0	0	0
10	パン類・菓子類	37	108	52	56	25	0	0	56	0	0
11	飲料	4	30	27	3	7	0	0	3	0	0
13	複合調理食品	7	16	6	10	1	0	0	10	0	0
14	その他の食料品	219	629	365	264	156	0	0	264	43	46
	合計	510	1436	880	556	311	0	0	556	70	73

産食品、農産加工食品、惣菜、パン類・菓子類、複合調理食品およびその他の食料品であった。

510検体から分離された1,436株のセレウス菌株のうち、880株 (61.3%) が澱粉分解 (+) 株であり、556株 (38.7%) が澱粉分解 (-) 株であった (表2)。セレウリド産生株は澱粉非分解であるとの報告^{3-4,9,19-20)}により、今回のセレウリド産生株の検索には、澱粉分解 (-) 株全株556株、および澱粉分解 (+) 株880株から無作為に抽出した311株を選び、バイオアッセイならびにCRS遺伝子検索に供試した。

その結果、澱粉分解 (+) 株311株はそのすべてがバイオアッセイ陰性であり、CRS遺伝子を保有していなかった。一方、澱粉分解 (-) 株556株ではその70株 (12.6%) がバイオアッセイ陽性で、かつ、CRS遺伝子を保有していた。なお、その他の食料品群由来の46株中3株はCRS遺伝子を保有したが、バイオアッセイでは陰性であった。以上、バイオアッセイ陽性、CRS遺伝子陽性でセレウリド産生と考えられる株はすべて澱粉分解 (-) であった。

70株のセレウリド産生株は農産加工食品、惣菜およびその他の食料品等3つの食品群に属する食品35検体から分離された。これら3食品群について表3に供試検体数、セレウス菌検出検体数、分離株中澱粉分解 (-) 株の割合および澱粉分解 (-) 株におけるセレウリド産生試験の結果を示した。豆類の加工品270検体のうち45検体 (16.7%) からセレウス菌が151株分離され、そのうち96株 (63.6%) が澱粉分解 (-) 株、さらに18株 (18.8%) がセレウリド産

生株であり、結果、豆類の加工品270検体のうち5検体 (1.8%) からセレウリド産生性セレウス菌が検出された。また、惣菜群に属する煮物413検体中12検体 (2.9%) から33株が分離され、その内の澱粉分解 (-) 株は21株 (63.6%)、さらにその2株がセレウリド産生株であったが、これらは同一検体からの分離株であったことから煮物413検体中1検体 (0.24%) からセレウリド産生性セレウス菌が検出されたことになった。以下同様に焼き物169検体のうち1検体 (0.59%) から2株、蒸し物173検体のうち1検体 (0.57%) から1株、炒め物58検体のうち1検体 (1.7%) から4株、その他の食料品群に属する調味料1,037検体のうち24検体 (2.3%) から41株、その他の食品115検体のうち2検体 (1.7%) から2株のセレウリド産生株が検出された。

セレウリド産生株が検出された各食品名、生菌数、セレウス菌数、セレウリド産生性と、空胞化活性力価および鞭毛抗原型を表4にまとめた。腐乳、コチジャン、味噌などの醗酵食品、蒸し鶏、チャーシュー以外の食品では生菌数に占めるセレウス菌数の割合が多く、その理由として、製造工程に加熱処理があり、その後水分活性が低いこと、他の細菌の増殖が抑制されていることが原因として推定される。

35検体から分離された澱粉分解 (-) 株は93株であり、そのうち70株 (75%) がセレウリド産生株であった。なお、これらの検体のうち、豆類の加工品は主原料が小豆や大豆であり、調味料23検体は、味噌、あるいは醤油を原料としたものであった。惣菜群の食品4検体については、このよ

表3. 各食品群（小分類）のセレウス菌検出状況および分離株のセレウリド産生性

大分類	小分類	供試 検体 数	セレウス菌 検出検体数 (%)	分離株の 澱粉分解性		澱粉分解（-）株 のセレウリド 産生性		セレウリド 産生菌 検出検体数 (%)
				供試 株数	澱粉分解 （-）株	バイオアッセイ 陽性株（%）		
7 農産 加工 食品	穀類の加工品	50	3 (6.0)	15	5	0 (0.0)	0	
	豆類の加工品	270	45 (16.7)	151	96	18 (18.8)	5 (1.80)	
	ナッツおよびナッツの加工品	23	0	0	0	0	0	
	種実類および種実加工品	11	0	0	0	0	0	
	コーヒー豆・ココア・茶	126	53 (42.1)	136	26	0 (0.0)	0	
	でん粉	1	0	0	0	0	0	
	野菜加工品	103	3 (2.9)	18	4	0 (0.0)	0	
	果実加工品	233	4 (1.7)	5	1	0 (0.0)	0	
	きのこ加工品	26	1 (3.8)	2	0	0	0	
	フラワーペースト	5	0	0	0	0	0	
	乾燥果実	23	4 (17.4)	9	6	0 (0.0)	0	
	野菜つけ物	223	34 (15.2)	72	16	0 (0.0)	0	
	めん類	59	5 (8.5)	6	1	0 (0.0)	0	
	その他の農産加工品	5	0	0	0	0	0	
	小計	1158	152 (13.1)	414	155	18 (11.6)	5 (0.43)	
8 惣菜	煮物	413	12 (2.9)	33	21	2 (9.5)	1 (0.24)	
	焼き物	169	9 (5.3)	18	6	2 (33.3)	1 (0.59)	
	揚げ物	45	2 (4.4)	6	2	0 (0.0)	0	
	酢の物	13	4 (30.8)	13	1	0 (0.0)	0	
	和え物	146	14 (9.6)	31	2	0 (0.0)	0	
	蒸し物	173	3 (1.7)	7	2	1 (50.0)	1 (0.57)	
	炒め物	58	4 (6.9)	22	8	4 (50.0)	1 (1.70)	
	その他	96	4 (4.2)	10	5	0 (0.0)	0	
	小計	1113	52 (4.6)	140	47	9 (19.1)	4 (0.36)	
14 その 他の 食料 品	調味料	1037	150 (14.5)	422	238	41 (17.2)	24 (2.30)	
	香辛料	173	45 (26.0)	152	5	0 (0.0)	0	
	糖類	30	0	0	0	0	0	
	その他の食品	115	24 (20.9)	55	21	2 (9.5)	2 (1.7)	
		小計	1355	219 (16.1)	629	264	43 (16.3)	26 (1.92)
	合計	3626	423 (11.6)	1183	466	70 (15.0)	35 (0.97)	

表4. セレウリド産生株検出食品の生菌数, セレウス菌数ならびにセレウリド産生株の毒素産生性および鞭毛抗原型

大分類	小分類	食品	生菌数*	セレウス菌数*	セレウリド産生性試験			鞭毛抗原型***
					供試株数	陽性株数	力価**	
7 農産加工食品	豆類の加工品	マロンあん	230	250	3	3	80~160	G1
	豆類の加工品	加糖マロンあん (A)	100	300	3	3	80~320	G1
	豆類の加工品	加糖マロンあん (B)	130	300	3	3	320	G1
	豆類の加工品	豆乳	50	50	1	1	160	G1
	豆類の加工品	腐乳 (瓶)	1600000	10000	8	8	10~160	G1
8 惣菜	煮物	あさり昆布佃煮	280	200	3	2	80~160	G1
	焼き物	チャーシュー	8700	200	3	2	20~40	G1
	蒸し物	蒸し鶏	440000	8800	1	1	640	G1
	炒め物	焼そば	720	600	10	4	40~80	G1
14 その他の食品	調味料	チシャ風味みそ	90000	700	3	3	160~320	G1
	調味料	液状かつをだし	200	200	2	1	80	G1
	調味料	そばつゆ (A)	200	200	2	1	640	G1
	調味料	米味噌	1500	100	1	1	80	G3
	調味料	醤油漬鱈子ソース	100	150	3	3	160	G3
	調味料	コチジャン (瓶)	2000000	1300	3	2	10~40	G1
	調味料	スキヤキ用調味液	70	150	3	3	40~160	G1
	調味料	米みそ (A)	12000	100	1	1	40	G1
	調味料	米みそ (B)	540	400	3	1	40	G1
	調味料	米みそ (C)	2100	3300	3	3	10~80	G1
	調味料	米みそ (D)	4100	1200	3	1	10	UT
	調味料	米みそ (E)	3100	3000	3	1	40	G1
	調味料	米みそ (F)	610	300	3	1	640	UT
	調味料	チキンライス用調味料	100	100	1	1	40	G1
	調味料	お好み焼き用ソース	200	200	2	1	40	G1
	調味料	塩ダレ調味料	1800	1600	2	1	20	G1
	調味料	生姜焼き用調味料	220	100	1	1	80	G1
	調味料	中濃ソース	230	150	3	3	10~20	G12
	調味料	焼そば用ソース	600	400	3	3	5	G12
	調味料	そばつゆ (B)	1500	800	3	3	10	G1
	調味料	甘みそ	11000	9200	2	1	80	T9
	調味料	梅肉味ポン酢	8500	3000	3	3	40~320	G1
調味料	かつおだし (瓶)	180	100	2	1	320	G1	
調味料	味噌鍋用調味料	230	50	1	1	40	G1	
その他の食品	さけ茶漬け	380	100	1	1	40	G1	
その他の食品	健康食品 (顆粒)	230	150	1	1	40	G1	
	合計	35			93	70		

* CFU/g

** バイオアッセイにより求められた産生セレウリドの力価

*** G: Gilbert の血清型, T: 寺山らの血清型

うな調味料を使用しているものと推定された。

これら70株のHEp-2細胞空胞化活性の力価は10~640倍であり、そのうちの43株について実施したLC-MSによるセレウリド測定値は数ng/mL~数10 ng/mLであったことから、セレウリド産生量は菌株により大きな差のあることが確認された。なお、セレウリドは126°C、90分の加熱やpH2やpH11での処理に安定な環状低分子ペプチドであり、ヒトにおける最小発症量は1 µg程度と推定されている²¹⁾。

また、70株の鞭毛抗原型はG1が57株、G12が6株、G3が4株、T9が1株、UTが2株であった。G1、G3、G12は嘔吐型食中毒の起因株として報告のある型である^{3-4,17,22)}。

食品のセレウス菌検査においては澱粉分解(一)株についてPCR法でセレウリド合成酵素遺伝子を検索することにより、より効率的にセレウリド産生性を推定できる。一方、検査結果については特に汚染検体が調味料の場合、その用途に応じた危害性の考慮が必要になるであろう。例えば、セレウリド産生株で汚染された調味料を他の食材に添加したり、チャーハン、スパゲッティ等の調理に使用した場合、それらが消費されるまでの流通、保管条件次第で生残した芽胞が発芽して増殖し、食中毒の原因となることが十分考えられる^{19,22-23)}。従って、汚染の可能性が否定できない食品に対しては、安全を確保するためにその危害性を考慮した衛生指導の徹底が必要である。

文 献

- 1) 全国食中毒統計：厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課，平成22年。
- 2) 全国食中毒事件録：厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課，平成21年。
- 3) 品川邦汎，国田信治，大中隆史，他：食衛誌，**21**，266-272，1980。
- 4) 伊藤 武，甲斐明美，斉藤香彦，他：東京衛研年報，**33**，9-18，1982。
- 5) 寺山 武，新垣正夫，山田澄夫，他：食衛誌，**19**，98-104，1978。
- 6) 楠 淳，池島伸至，新井輝義，他：東京衛研年報，**28-1**，11-14，1977。
- 7) 潮田 弘，五十嵐英夫，高橋正樹，他：東京衛研年報，**31-1**，109-114，1980。
- 8) 新井輝義，池内容子，柴田幹良，他：東京衛研年報，**55**，133-137，2004。
- 9) 品川邦汎，国田信治，佐々木 寧，他：食衛誌，**20**，431-436，1979。
- 10) Parry, J.M. and Gilbert, R.J.: *J. Hyg., Camb.*, **84**, 77-82, 1980.
- 11) 神保勝彦，小久保彌太郎：東京衛研年報，**33**，161-165，1982。
- 12) 新井輝義，池島伸至，平田一郎，他：東京衛研年報，**42**，65-69，1991。
- 13) Hughes, S., Bartholomew, B., Hardy, J.C., et al.: *FEMS Microbiol. Lett.*, **52**, 7-12, 1988.
- 14) Agata, N., Mori, M., Ohta, M., et al.: *FEMS Microbiol. Lett.*, **121**, 31-34, 1994.
- 15) 秋場哲哉，千葉隆司，新井輝義，他：日食微誌，**22**，112-115，2005。
- 16) 千葉隆司，秋場哲哉，井部明広，他：日食微誌，**23**，137-142，2006。
- 17) Taylor, A.J. and Gilbert, R.J.: *J. Med. Microbiol.*, **8**, 543-550, 1975.
- 18) 食品衛生関係苦情処理集計表：東京都福祉保健局健康安全部食品監視課，平成21年。
- 19) 新井輝義，池島伸至，平田一郎，他：日食微誌，**9**，159-164，1992。
- 20) 門間千枝，石崎直人，小西典子，他：第26回日食微学会学術総会抄録，2005年11月，金沢。
- 21) 安形則雄：食品衛生研究，**60**，27-35，2010。
- 22) Gilbert, R.J. and Parry, J.M.: *J. Hyg., Camb.*, **78**, 69-74, 1977.
- 23) 安形則雄，森 正司：日食微誌，**14**，145-148，1997。

Contamination of *Bacillus cereus* in Commercial Foods and the Producibility of Emetic Toxin, Cereulide, of the Isolates

Teruyoshi ARAI^a, Takashi CHIBA^a, Tetsuya AKIBA^a, Chie MONMA^a,
Akiko NAKAMA^a and Akemi KAI^a

We examined the contamination of *Bacillus cereus* in foodstuffs, food products and cooked foods in markets in Tokyo, to know the incidence of cereulide producible strains. Cereulide is known as one of emetic toxins. The contamination rate of *B. cereus* was 10.2%. The contamination exceeding 10⁴ CFU/g was detected in agriculture products and the processed food of them, daily dishes, breads, cakes and complex foods and the others.

Of 1,436 *B. cereus* isolates, 880 were starch hydrolysis-positive. A total of 867 strains including randomly selected 311 of these 880 isolates and the 556 starch hydrolysis -negative isolates were tested for cereulide producibility by bioassay of their vacuolation activity to HEP-2 cells and detected the CRS gene (cereulide related gene) by PCR.

All starch hydrolysis-positive strains did not produce cereulide, nor possessed the CRS gene. However, 70 of the 556 starch hydrolysis-negative isolates produced cereulide and possessed CRS gene.

The H antigen types of cereulide producing strains were G1, G3, G12 and T9, and except T9, they were the same types as that of emetic-type food poisoning isolates.

Of the 35 foods contaminated by cereulide-producing isolates, 5 were red bean and soybean processed foods such as bean jam, *tou-nyu*, and *fu-nyu*, 4 were daily dishes as short-necked clam boiled down soy with tangle, boiled chicken, fried noodles and roasted pork, 24 were seasonings as *miso*, sauces and sauce dips, and 2 were fish flour and processed rice bran.

Keywords: *Bacillus cereus*, emetic toxin, starch hydrolysis, cereulide, CRS gene

^a Tokyo Metropolitan Institute of Public Health
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Japan