

食物中毒

蜡样芽胞杆菌食物中毒死亡案例分析

王洋,周帼萍

(武汉工业学院生物与制药工程学院,湖北 武汉 430023)

摘要: 一般由蜡样芽胞杆菌(*Bc*)引起的食物中毒通常症状较温和而且可自愈。但随着国内外相关研究的深入,发现少数 *Bc* 食物中毒可能导致非常严重的后果,甚至致死。本研究主要分析国内外已报道的 *Bc* 食物中毒死亡案例 12 起,探讨其中的规律和共性。

关键词: 蜡样芽胞杆菌;食物中毒;死亡案例

中图分类号: Q939.97 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-8456(2011)02-0191-04

Analysis on fatal cases caused by *Bacillus cereus* induced foodborne poisoning

Wang Yang, Zhou Guoping

(Institute of Bioengineering and Pharmaceutical Engineering, Wuhan Polytechnic University, Hubei Wuhan 430023, China)

Abstract: The clinical manifestation of foodborne poisoning caused by *Bacillus cereus* is usually mild and self-healing. With further studies, a few food poisonings induced by *B. cereus* could be serious, even fatal. Twelve reported fatal cases caused by *B. cereus* were reviewed in this paper to investigate the common rule and pattern of the disease.

Key words: *Bacillus cereus*; foodborne poisoning; fatal cases

蜡样芽胞杆菌(*Bacillus cereus*, *Bc*)广泛存在于土壤、空气、水、尘埃以及植物中,也适合在昆虫和哺乳动物等多种动物的肠道中繁殖。其芽胞具有良好的抗逆性,能在食品的杀菌工艺和脱水干燥过程中存活下来,是常见的食品污染菌和食源性致病菌,可导致腹泻型和呕吐型两种食物中毒。几乎所有种类的食品都曾被报道与 *Bc* 食物中毒有关。首次报道的 *Bc* 食物中毒是 1947—1949 年发生于挪威医院中的腹泻型案例^[1],而我国的首例报道是 1973 年南京某工厂托儿所儿童进食泡饭引起的 *Bc* 食物中毒^[2]。流行病学调查表明,*Bc* 引起的食物中毒在北欧是最常见的食物中毒之一^[3];很多研究都显示 *Bc* 食物中毒在我国也很常见^[4]。但一般来说,由 *Bc* 引起的食物中毒通常症状较温和而且病程不超过 48 h,所以我国对相应的致病菌 *Bc* 的研究较为忽视。但随着国内外相关研究的深入,发现少数 *Bc* 食物中毒可能导致非常严重的后果,甚至致死。本研究主要分析国内外已报道的 *Bc* 食物中毒死亡案

例 12 起,探讨其中的规律和共性。

1 死亡案例

本研究的数据来源是截止 2010 年 7 月 10 日,在 Pubmed、维普数据库、中国期刊全文数据库中分别输入(蜡/腊)(样/状/质)芽(孢/胞)杆菌或 *Bacillus cereus*, 死亡或 fatal 等关键词,所收集到的国内外学术期刊上报道的蜡样芽胞杆菌食物中毒死亡案例,共 12 起。还有 1 例 1963 年的死亡案例,原文为德文,内容不详,未列入案例分析中^[5]。

从死亡人数、年龄、中毒症状、食品种类、保存方法和时间、死因、*Bc* 含菌量、地点、潜伏期和时间等方面分析 12 起死亡案例,列汇总表,详见表 1。

2 食物中毒类型分析

近 20 年来,国外的 *Bc* 死亡案例中都检测了 *Bc* 呕吐毒素 cereulide,所以食物中毒类别非常明确。但国外早期案例和国内案例,只能从中毒症状和潜伏期推测是呕吐型还是腹泻型 *Bc* 食物中毒。呕吐型以恶心、呕吐为主要症状,常伴腹泻和腹痛;其潜伏期短,一般在 4 h 内,多数在 30 min 左右时就发生呕吐。腹泻型一般以腹痛腹泻为主要症状,少数伴恶心呕吐;潜伏期在 4~6 h^[1,3]。

根据此标准分析,除发生在法国^[18]的 1 个案例

收稿日期:2010-08-27

基金项目:中丹政府间科技合作项目(国科外字 2010-329-No. 15)

作者简介:王洋 女 硕士生 研究方向为生物工程 E-mail: oceanwangocean@163.com

通信作者:周帼萍 博士、副教授 研究方向为微生物与食品安全 E-mail: wjczgp@163.com

表1 国内外 Bc 食物中毒死亡案例汇总表

Table 1 The reported *Bacillus cereus* fatal food poisoning cases in world

时间	地点	死亡/中毒人数	死者年龄	中毒症状	潜伏期	食品种类; 保存时间和方法	死因	Bc 含菌量 (CFU/g)	参考文献
1974-08-04	日本名古屋	1/50	11	呕吐、腹痛、腹泻	1 h	煮熟的中式面条	心肌脂肪变性导致心力衰竭	6×10^7 (煮熟面条); 6×10^8 (生面条)	6
不详	德国	1	37	不详	不详	不详	不详	不详	7
不详	瑞士	1/2	17	呕吐/腹痛腹泻	30min	spaghetti and pesto; 冷藏4 d, 食用前加热	急性肝衰竭	Pesto: 400; spaghetti: 无样品供检	8
2003-08	法国	1/5	7	呕吐、呼吸窘迫	6h	意大利面沙拉; 室温过夜, 14 °C 冷藏3 d	代谢性酸中毒和肝衰竭	10^8	9
2008-10-27	日本大阪	1/3	1	呕吐, 无发烧腹泻	30min	炒饭; 室温1 d, 食用前重新加热	急性脑部病变	已检出	10
秋季	四川雅安	1/5	不详	不详	不详	米饭、煮熟蔬菜; 可能未冷藏	不详	米饭: 1.4×10^9	11
1998-09	浙江	2/3	12, 37	恶心、呕吐、腹痛腹泻	30min	冷饭; 室温3 d 冷藏2 d	肾肺多脏器衰竭	不详	12
不详	云南文山	2/4	7, 30	恶心、呕吐、腹痛、腹泻、胃肠道出血	90 min	自制甜白酒 250 g	50 ~ 败血症	5×10^8	13
1994-04-08—05-17	湖南岳阳	4/32 ^[14] 9/32 ^[15]	儿童	呕吐、发热、腹泻	30 min	加奶多维淮山米粉和全脂营养奶粉 (外购)	高热抽搐而死亡	米粉 Bc 2.27×10^4 , 奶粉 <i>E. coli</i> 10^3	14, 15
1998-06	贵州册亨	4/5	不详, 推测有成人和儿童	头晕、恶心、呕吐、腹泻严重	2~3h	室温3 d 大米玉米粉; 食用前油炒过	不详	1.2×10^7	16
2002-06-25	广东广州	1/2	73	恶心、呕吐、腹泻、腹痛	2h	外购汉堡包; 常温放置17~18 h	Bc 食物中毒合并其他疾病致死	无汉堡包样品供检; 其它肠包 3.0×10^6	17
1998-03	法国	3/44	老年	出血性腹泻	不详	蔬菜泥	出血性腹泻	3×10^5	18

是典型的腹泻型食物中毒外, 其余 11 个案例都是呕吐型 Bc 食物中毒。

3 死亡案例中中毒食品分析

除德国案例中中毒食物不明外, 其余 10 例呕吐型死亡案例中毒食品都涉及到米、面制品, 主要是自制的米饭和面条 (中式和意式面) (7/10)。较为特殊的米粉 (1/10)^[14,15]、汉堡包 (1/10)^[17] 和甜白酒 (1/10)^[13], 也是米面加工制品。腹泻型死亡案例中则是蔬菜泥^[18]。

4 死因

国外的死亡案例分析较为详尽, 除早期案例外, 都有病理、毒理和尸检结果; 国内的死亡案例报道比较简单, 只有案例报道, 仅岳阳案例中进行了尸检^[14], 浙江案例中进行了开棺验尸^[12]。呕吐型死亡案例中明确的死因涉及到心肌脂肪变性导致心力衰竭^[6]、急性肝衰竭^[8]、代谢性酸中毒和肝衰竭^[9]、急性脑部病变 (新生儿)^[10], 广州案例中死因为 73 岁的患者合并其他疾病致死^[17]。而唯一的腹泻死亡案例的死因为出血性腹泻^[18]。

5 死亡人数和年龄

呕吐型食物中毒中 9 起死亡案例为家庭散发型食物中毒, 死亡人数多为 1~4 人; 岳阳案例为集体食物中毒, 死亡 4 人^[14], 文献^[15]报道为 9 人; 日本名古屋案例没有说明具体情况, 从中毒人数 50 人来看, 推测为集体食物中毒, 死亡 1 人^[6]。发生在法国老年疗养院的腹泻型死亡案例为集体食物中毒, 死亡 3 人^[18]。

除德国案例外, 国外呕吐型死亡案例中死者基本都是未成年人 (≤ 1 岁 ~ 17 岁)。而我国案例中至少有 4 起案例中有成年人死亡^[12,13,16,17], 其中至少 1 起有老年人 (原报道认为是 Bc 食物中毒合并其他疾病导致死亡^[17]), 也涉及到至少 7 名未成年人死亡^[12-16]。贵州案例没有具体说明死者年龄, 但是说明是一家人, 除母亲和大哥外, 均食物中毒, 所以可以推测出有成人和儿童^[16]。

6 食品加工、保存方法

在这些呕吐型死亡案例中, 至少有 4 个案例中的中毒食物都在食用前经过重新加热 (蒸、炒等)^[6,8,10,16]。国内案例中中毒食物大都没有冷藏,

但瑞士案例中明确说中毒食物是4天前制备的,但是一直冷藏,只有几次短暂放置在室温环境下,头2天食用时正常^[8]。由此案例可以推测,Bc的增殖和呕吐毒素的合成主要都在冷藏过程中完成。法国案例中也说明了食物制备后室温过夜,第2天吃时正常,14℃冷藏3d后食用导致中毒^[9],可见呕吐毒素主要是在冷藏期产生的。

7 讨论

(1)从死亡案例上看,11例呕吐型死亡案例中就有8例发生在亚洲,日本2例,中国6例。可见Bc呕吐型食物中毒在亚洲危害性更大,其原因可能与亚洲主食为米饭、面条有关。我国的死亡案例均发生在长江以南地区,可能与该地区高温高湿的气候有关。

(2)由2个国外案例^[8,9]中可以明显推断出呕吐毒素 cereulide 主要是在冷藏时产生的,在国内的一些呕吐型 Bc 食物中毒案例报道中也可以推断出相同的结论^[19,20]。这点非常值得注意,早期认为 Bc 是中温微生物,能在 10~50℃ 生长。近 20 年来发现了越来越多的耐冷型 Bc 菌株,能在 4~7℃ 低温下生长。1998 年韦氏芽胞杆菌被定义为蜡样芽胞杆菌群(*B. cereus* group)中的一个新种:该类微生物能在 4~7℃ 生长,但不能在 43℃ 生长。目前该定义虽存在争议,但是它强调了 Bc 的耐冷型菌株及其对冷藏类食品的威胁。对于工业化社会来说,这类耐冷型芽胞杆菌的危害正日益凸现。2005 年欧洲食品安全局(European Food Safety Authority, EFSA)已经将 Bc 生长温度范围描述为 4~5℃ 到 55℃^[21]。近年我国还有人认为 Bc 在 15℃ 以下不生长繁殖,所以冷藏能防止 Bc 食物中毒^[22,23],是不准确的。冷藏能减缓 Bc 生长速度,延长食品保存时间,降低食物中毒几率,但是不能完全杜绝 Bc 食物中毒。切不可因具备冷藏条件而对 Bc 食物中毒掉以轻心!

(3)呕吐毒素 cereulide 非常稳定,食用前的重新加热、胃酸和肠道中的蛋白酶都不能破坏该毒素,所以引发呕吐型食物中毒的 cereulide 是预先在食品中合成的,发病潜伏期非常短。11 个呕吐型死亡案例中,至少有 4 个案例^[6,8,10,16]中的中毒食物都明确说明在食用前经过重新加热(蒸、炒等),仍然导致了严重的后果,从而证实 cereulide 的耐热性和稳定性,一旦合成,其毒力基本不受后续食品加工的影响。所以预防 Bc 呕吐型食物中毒,必须从防止 cereulide 的合成着手。根据我们的研究,在生长曲线的迟滞期和对数期早期检测不到 cereulide 的

活性,它在对数期末才开始逐渐合成,随后其浓度不断上升,是一种典型的次生代谢产物(待发表)。其它文献也认为 cereulide 是在生长曲线对数期末和稳定期初开始合成的^[24]。从案例中也可以推测出,低温冷藏一般 2 天之后,才开始大量产生毒素;而室温下一般只需要过夜或 1 天就能达到危险的数量。

(4)我国食物中毒之后一般检测含菌量,但呕吐型 Bc 只是 Bc 中极少数特殊的菌株^[25],且食用前加热会降低 Bc 活菌数量,所以单纯检测 Bc 及其数量,并不能说明多少问题,直接检测 cereulide 最准确,特别是无足够数量的食物可供检测的情况下。因为它非常稳定,且不溶于水,可以在加工器具上检测出来。瑞士案例中就是没有 spaghetti 样品供检,但是从加热的平底锅上检测到呕吐毒素的活性^[8]。

cereulide 的准确定量检测需要复杂精密的仪器,所以目前多数采用检测其生物活性的方法,如 HEP-2 细胞形成空泡分析(HEP-2 vacuolation assay)。用此方法,瑞士案例中锅中残留物检测的滴度为 960 ± 320 ^[8]。2008 年日本大阪案例中死去的 1 岁男孩血清 cereulide 浓度达 4 ng/ml,尸检时肠道内容物中其浓度达 800 ng/ml;严重中毒的 2 岁女孩住院时血清中其浓度达 4 ng/ml,粪便中其浓度达 160 ng/ml;26 岁的母亲血液、尿液中均未检出 cereulide,粪便未检测^[10]。

(5)Bc 是非常常见的食品污染菌,可通过各类器具、空气和原料等多种途径污染食品。它在各类食品中均可检出,且检出率极高。例如:在我国巴氏杀菌乳中检出率可达近 80%^[26],冰激凌中达 60%^[27]。但 Bc 菌株的毒力差异很大,仅有 $\leq 1\%$ 的菌株为呕吐型致病株,也就是说呕吐型致病株只是 Bc 菌株中极少数特殊的菌株^[25]。目前尚不清楚这些呕吐型致病株在自然界的分布,为什么目前分离到的 Bc 呕吐型菌株都是淀粉酶阴性的,但是绝大多数呕吐型食物中毒偏偏都是由富含淀粉质的食品引发^[28]? 需要加强有关这类特殊的高毒力致病菌株的研究。

(6)Bc 腹泻中毒涉及到多个肠毒素基因的产物,目前至少已经发现了 5 种不同的肠毒素:溶血素 BL(Hbl)、非溶血性的肠毒素 Nhe、细胞毒素 K(CytK)、肠毒素 T(BceT)和肠毒素 HlyII。唯一一个因腹泻型 Bc 食物中毒而导致的死亡案例,发生在 1998 年 3 月一个法国老年疗养院中,因食用 Bc 含菌量达 3×10^5 CFU/g 的蔬菜泥(vegetable puree,)导致 44 人食物中毒,有 6 人发生出血性腹

泻,其中3人死亡。其致病株非常特别,除CytK外,其他肠毒素的检测结果均为阴性。所以该案例充分证实了CytK这种桶孔形成类的细胞毒素是腹泻型食物中毒中的主要致病因子之一^[18]。

这些肠毒素/细胞毒素都是热敏性毒素,在胃中会被破坏,所以一般认为腹泻型食物中毒是由残留下来的蜡样芽胞杆菌(芽胞或菌体)在小肠中生长、产肠毒素引起的,发病潜伏期较长。食用前的充分加热有助于防范Bc腹泻型食物中毒。

(7)欧洲食品安全局曾指出脱水食品(汤、蔬菜/果泥、婴儿配方食品)中经常检出致病性Bc,一旦采用温水调和,可能导致Bc繁殖产毒^[21]。类似食物已导致多起食物中毒事件,特别是当这类食品提供给新生儿和老人等体弱消费者时。例如:发生在老年疗养院的法国案例中死亡3人,中毒食物就是蔬菜泥;而我国岳阳福利院中死亡4/9名儿童,中毒食物就是米粉。相关食品加工企业应当注意这种风险,尽可能减少脱水食品中Bc含量,而消费者和食品供应商也应该注意,这类食品复水后应该尽快食用。

参考文献

- [1] STENFORS ARNESEN L P, FAGERLUND A, GRANUM P E. From soil to gut: *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins [J]. FEMS Microbiol Rev, 2008, 32(4):579-606.
- [2] 齐桂凤. 一次由蜡样芽胞杆菌引起的列车食中毒[J]. 肉品卫生, 1996(7): 15-17.
- [3] GRANUM P E, LUND T. *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins [J]. FEMS Microbiol Lett, 1997, 157(2):223-228.
- [4] 张肃. 1985年~2000年我国食物中毒情况重点分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2002, 14(5):26-28.
- [5] TEMPER K. Exitus letalis nach Lebensmittelvergiftung durch *Bacillus cereus* [J]. Z Gesamte Hvg Grenzgeb, 1963, 9:481-90.
- [6] TAKABE F, OYA M. An autopsy case of food poisoning associated with *Bacillus cereus* [J]. Forensic Sci, 1976, 7(2): 97-101.
- [7] DIRNHOFER R, SONNABEND O, SONNABEND W. A fatal food poisoning caused by *Bacillus cereus* (author's transl) [J]. Z Rechtsmed, 1977, 80(2):139-151.
- [8] MAHLER H, PASI A, KRAMER J M, et al. Fulminant liver failure in association with the emetic toxin of *Bacillus cereus* [J]. N Engl J Med, 1997, 336(16): 1142-1148.
- [9] DIERICK K, van COILLIE E, SWIECICKA I, et al. Fatal family outbreak of *Bacillus cereus*-associated food poisoning [J]. J Clin Microbiol, 2005, 43(8):4277-4279.
- [10] SHIOTA M, SAITOU K, MIZUMOTO H, et al. Rapid detoxification of cereulide in *Bacillus cereus* food poisoning [J]. Pediatrics, 2010, 125(4):e951-955.
- [11] 魏洪贵, 刘思寨, 刘祥俐, 等. 蜡样芽胞杆菌引起食物中毒的调查分析[J]. 预防医学情报杂志, 2000, 16(3):258-259.
- [12] 丁国盛, 刘良, 彭东兵. 蜡样芽胞杆菌食物中毒2例[J]. 刑事技术, 2000(3):44.
- [13] 李洪春, 黄家兴. 蜡样芽胞杆菌败血症死亡二例[J]. 中华检验医学杂志, 1997, 20(1):60.
- [14] 邓怀云. 蜡样芽胞杆菌食物中毒死亡案例1例[J]. 法医学杂志, 1995, 11(3):137.
- [15] 唐洪. 吃字好担忧——饮服市场假冒伪劣忧思录[J]. 中国技术监督, 1995(4):16-18.
- [16] 翟娅, 周运书. 一起蜡样芽胞杆菌致家庭食物中毒的调查[J]. 现代预防医学, 2000, 27(2): 248.
- [17] 许斌, 付裕, 张革辉. 一起食物中毒死亡报告分析[J]. 实用预防医学, 2003, 10(5):779.
- [18] LUND T, de BUYSER M L, GRANUM P E. A new cytotoxin from *Bacillus cereus* that may cause necrotic enteritis [J]. Mol Microbiol, 2000, 38(2):254-261.
- [19] 孙振科. 一起由蜡样芽胞杆菌引起的食物中毒[J]. 现代医药卫生, 2004, 20(20):2201.
- [20] 陈雄明, 方玲. 一起小学生食物中毒的调查[J]. 上海预防医学杂志, 2000, 12(4):181-182.
- [21] Anon. *Bacillus cereus* and other *Bacillus* spp in foodstuffs [J]. EFSA J, 2005, 175: 1-48.
- [22] 周丽萍, 陈永绸. 一起蜡样芽胞杆菌污染脆丸引起食物中毒的调查[J]. 中国卫生监督杂志, 2001, 8(2):63-65.
- [23] 王建尧, 杨爱华, 李四清. 丰都县某中心小学食物中毒调查报告[J]. 职业卫生与病伤, 2002(2):110.
- [24] HÄGGBLÖM M M, APETROAIE C, ANDERSSON M A, et al. Quantitative analysis of cereulide, the emetic toxin of *Bacillus cereus*, produced under various conditions [J]. Appl Environ Microbiol, 2002, 68(5):2479-2483.
- [25] ALTAYAR M, SUTHERLAND A D. *Bacillus cereus* is common in the environment but emetic toxin producing isolates are rare [J]. J Appl Microbiol, 2006, 100(1):7-14.
- [26] ZHOU Guoping, LIU Haizhou, HE Jin, et al. The occurrence of *Bacillus cereus*, *B. thuringiensis* and *B. mycoides* in Chinese pasteurized full fat milk [J]. Int J Food Microbiol, 2008, 121(2): 195-200.
- [27] ZHOU Guoping, ZHENG Dasheng, DOU Lina, et al. Occurrence of psychrotolerant *Bacillus cereus* group strains in ice creams [J]. Int J Food Microbiol, 2010, 137(2-3):143-146.
- [28] EHLING-SCHULZ M, SVENSSON B, GUINEBRETIERE M H, et al. Emetic toxin formation of *Bacillus cereus* is restricted to a single evolutionary lineage of closely related strains [J]. Microbiol, 2005, 151(Pt 1):183-197.