

AVIS 23-2018

Objet:

**Évaluation du risque pour le consommateur
de la présence de *Bacillus cereus* dans les
denrées alimentaires**

(SciCom 2018/04)

Avis scientifique approuvé par le Comité scientifique le 21 décembre 2018.

Mots-clés :

Bacillus cereus, *Bacillus thuringiensis*, microbiologie des denrées alimentaires, biopesticide, évaluation des risques

Key terms:

Bacillus cereus, *Bacillus thuringiensis*, food microbiology, risk assessment, biopesticide, literature study

Table des matières

Résumé	3
Summary	4
1. Termes de référence	6
1.1. Questions	6
1.2. Dispositions législatives	6
2. Définitions et abréviations	6
3. Introduction.....	7
3.1. <i>Bacillus cereus</i>	7
3.2. Le projet BACEREUS.....	8
3.3. Contexte de la demande d'avis	8
4. Étude bibliographique	9
4.1. Structure de l'étude bibliographique.....	9
4.2. Résultats de l'étude bibliographique.....	9
4.2.1. Taxonomie et pathogénicité du groupe <i>B. cereus</i>	9
4.2.2. Méthodes de détection, dénombrement et différenciation des membres du groupe <i>B. cereus</i>	10
4.2.3. Présence et niveaux de <i>Bacillus spp.</i> , et plus spécifiquement <i>B. cereus</i> , dans les denrées alimentaires et l'environnement.....	11
4.2.4. Possibilités de contrôle permettant de gérer la contamination des denrées alimentaires par les <i>Bacillus spp.</i> et leurs toxines	12
5. Dans quelle mesure l'utilisation de <i>B. thuringiensis</i> comme biopesticide est-elle sûre ?	13
6. Mesures à prendre en réponse à des concentrations élevées de <i>B. thuringiensis</i> ou de <i>B. cereus</i>	14
7. Incertitudes	15
8. Conclusions.....	16
9. Recommandations.....	16
Références	18
Membres du Comité scientifique.....	21
Conflit d'intérêts	21
Remerciements	22
Composition du groupe de travail	22
Cadre juridique.....	22
Disclaimer	22
Annexe #1: Approche de l'étude bibliographique adoptée.....	23
Annexe #2: Liste des articles pertinents (étude bibliographique).....	26

Résumé

Avis 23-2018 Évaluation du risque pour le consommateur de la présence de *Bacillus cereus* dans les denrées alimentaires

Contexte & Questions

Il est demandé au Comité scientifique sur base de quels éléments scientifiques le risque pour le consommateur peut être évalué, lorsque des concentrations élevées de *Bacillus cereus* (*B. cereus*) ($> 10^5$ ufc/g ou ml) présentant un potentiel de production de toxines sont constatées dans une denrée alimentaire. Il est également demandé sur la base de quels critères des mesures devraient être prises suite à la constatation de nombres élevés de *B. cereus*. Une attention particulière est, en outre, également demandée concernant la sécurité d'utilisation de *B. thuringiensis* comme biopesticide.

Méthodologie

L'avis se base sur la littérature scientifique récente et l'opinion des experts. La littérature scientifique récente a été analysée de manière systématique à l'aide d'une étude bibliographique afin de vérifier si de nouvelles connaissances étaient disponibles sur le risque que représente *B. cereus* pour le consommateur, depuis l'avis de l'EFSA de 2016 relatif à la présence de *B. cereus* dans les denrées alimentaires.

Résultats

L'étude bibliographique n'a livré aucune nouvelle information par rapport à l'opinion de l'EFSA de 2016 relative aux éléments permettant d'évaluer les risques que représente la présence de *B. cereus* dans les denrées alimentaires, tant pour les cellules végétatives que pour les spores et les toxines. Pour cette raison, le Comité scientifique n'a effectué aucune réévaluation des risques pour *B. cereus*.

De manière générale, les souches commerciales de *B. thuringiensis* utilisées comme biopesticide sont considérées comme sûres en raison de leur long historique d'utilisation. Il reste toutefois important d'évaluer la sécurité de ces souches de manière individuelle. Il n'existe actuellement pas de marqueurs permettant de distinguer facilement ces souches de celles de *B. cereus*.

Conclusions

Sur la base d'une étude bibliographique et de l'opinion d'experts, le Comité scientifique n'a pas trouvé de nouveaux éléments scientifiques permettant de mieux évaluer le risque de *B. cereus* dans les denrées alimentaires. Par conséquent, le comité scientifique propose, compte tenu des incertitudes, d'appliquer une limite d'action pragmatique pour le *B. cereus* (10^5 ufc/g ou ml) et de prendre des mesures sur la base de cette limite d'action. Le Comité scientifique recommande également d'envoyer des échantillons de denrées alimentaires contenant des concentrations élevées ($> 10^5$ ufc/g ou ml) de *B. cereus* présumé au laboratoire de référence, pour une identification plus approfondie de l'espèce afin d'accroître les connaissances sur les souches en circulation.

Le Comité scientifique souhaite également attirer l'attention sur le fait que certaines souches de *B. cereus sensu stricto* ne sont pas les seules à pouvoir représenter un risque potentiel pour la sécurité alimentaire, mais que cela peut être également le cas de certaines souches d'autres espèces du groupe *B. cereus*, comme *B. thuringiensis*, *B. pseudomycoïdes* ou *B. cytotoxicus*. Le Comité scientifique recommande donc d'appliquer la même limite d'action (10^5 ufc/g ou ml) aux autres espèces du groupe *B. cereus*, comme *B. thuringiensis* (y compris les souches utilisées comme biopesticide), car aucune information concluante ne peut être donnée sur leur pouvoir infectieux pour l'homme. Le Comité scientifique recommande également de réévaluer la limite d'action pour *B. cereus* et les autres espèces du groupe *B. cereus* si, le cas échéant, de nouvelles informations devenaient disponibles. Enfin, le Comité scientifique recommande de séquencer les souches de *B. thuringiensis* utilisées comme biopesticides et d'analyser ces souches pour la présence de gènes de résistance aux antibiotiques cliniquement pertinents.

Summary

Advice 23-2018 Estimation of the risk to the consumer of *Bacillus cereus* in food

Background & Terms of reference

The Scientific Committee is asked on basis of which scientific elements the risk to the consumer can be estimated when high concentrations of *Bacillus cereus* (*B. cereus*) ($> 10^5$ CFU / g or ml) with toxin-forming property are found in food. The Scientific Committee is also asked on the basis of which criteria measures should be taken in connection to high concentrations of *B. cereus*. In addition, attention was also given to the safety of the use of *B. thuringiensis* as biopesticide.

Methodology

This advice is based on recent literature data, as well as on expert opinion. The recent scientific literature was analysed in a systematic way by means of a literature study and it was assessed whether new knowledge was available with regard to the risk for the consumer of *B. cereus* compared to the EFSA opinion from 2016 on *B. cereus* in food.

Result

The literature study did not provide any new insights compared to the EFSA opinion from 2016 with regard to the elements that allow to estimate the risks related to the presence of *B. cereus* in food, for vegetative cells, spores and toxins. For this reason, no new risk assessment was performed by the Scientific Committee for *B. cereus*.

In general, commercial *B. thuringiensis* strains used as biopesticide are considered as safe due to their long usage history. However, it remains important to assess the safety of these strains individually. At present there are no markers to easily differentiate these strains from other *B. cereus* strains.

Conclusion

Based on a literature study and expert opinion, the Scientific Committee did not find new scientific elements to better assess the risk of *B. cereus* in food. Therefore the Scientific Committee proposes , in view of the uncertainties, to use a pragmatic action limit for *B. cereus* (10^5 CFU/g or ml) and to take measures based on this action limit. The Scientific Committee also recommends sending food samples with high concentrations ($> 10^5$ CFU/g or ml) from suspected *B. cereus* to the reference laboratory for further identification at species level in order to gain further knowledge on the circulating strains.

In addition, the Scientific Committee would like to draw attention to the fact that not only certain strains of *B. cereus sensu stricto*, but also strains of other species from the *B. cereus* group, such as *B. thuringiensis*, *B. pseudomycooides* or *B. cytotoxicus*, can potentially pose a risk to food safety. The Scientific Committee recommends using the same action limit (10^5 CFU/g or ml) for the other species from the *B. cereus* group, such as *B. thuringiensis*, since no definite answer can be given about their infectious ability for humans. For *B. thuringiensis* strains, including the strains used as biopesticide, the same action limit also applies (10^5 CFU / g or ml). The Scientific Committee also recommends that the action limit for *B. cereus* and other species from the *B. cereus* group be re-evaluated, if sufficient new information becomes available. Finally, the Scientific Committee recommends sequencing the *B. thuringiensis* strains used as biopesticides and analyzing these strains for the presence of clinically relevant antibiotic resistance genes.

1. Termes de référence

1.1. Questions

Le Comité scientifique est invité à répondre aux questions suivantes:

1. Sur la base de quels éléments scientifiques le risque pour le consommateur peut-il être évalué, lorsque le *B. cereus* est constaté à une concentration élevée ($> 10^5$ ufc/g ou ml) et que la propriété de formation de toxine de la souche est démontrée, tant pour la toxine émétique que pour la toxine diarrhéique, dans des denrées alimentaires prêtes ou non prêtes à la consommation ?
2. Au vu des résultats du projet de recherche BACEREUS, est-il judicieux de baser les mesures sur la constatation de concentrations élevées en cellules végétatives capables de produire des toxines diarrhéiques ? Est-il recommandé d'appliquer une limite d'action pour les spores de *B. cereus* ? Ou faut-il suivre une autre approche en matière d'analyse ?

1.2. Dispositions législatives

Règlement (CE) N° 178/2002 du Parlement européen et du Conseil du 28 janvier 2002 établissant les principes généraux et les prescriptions générales de la législation alimentaire, instituant l'Autorité européenne de sécurité des aliments et fixant des procédures relatives à la sécurité des denrées alimentaires.

Règlement (CE) N° 852/2004 du Parlement européen et du Conseil du 29 avril 2004 relatif à l'hygiène des denrées alimentaires.

Règlement (CE) N° 853/2004 du Parlement européen et du Conseil du 29 avril 2004 fixant des règles spécifiques d'hygiène applicables aux denrées alimentaires d'origine animale.

Règlement (CE) N° 2073/2005 de la Commission du 15 novembre 2005 concernant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires.

1.3. Méthodologie

L'avis est basé sur la littérature scientifique récente et sur l'opinion d'experts. Nous avons étudié la littérature scientifique récente de manière systématique à l'aide d'une étude bibliographique (voir Annexe #1) et avons vérifié si de nouvelles connaissances étaient disponibles sur le risque que représente *B. cereus* pour le consommateur, depuis l'avis de l'EFSA de 2016 relatif à la présence de *B. cereus* dans des denrées alimentaires.

2. Définitions et abréviations

CytK	Cytotoxine K
EFSA	Autorité Européenne de Sécurité des Aliments (<i>European Food Safety Authority</i>)
AFSCA	Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire
HBL	L'hémolysine BL

CSS	Conseil Supérieur de la Santé
ufc	unités formant colonie (CFU, <i>Colony Forming Unit</i> en anglais)
MYP	Mannitol egg-yolk polymyxin
Nhe	L'entérotoxine non-hémolytique
SciCom	Le Comité scientifique de l'AFSCA

Limite d'action: Critère réglementaire ou valeur indicative proposée par la DG Politique de contrôle (et au besoin validée par le Comité scientifique) lorsqu'il n'y a pas de critère réglementaire disponible.

Vu les discussions durant les réunions du groupe de travail des 7/05/2018 et 19/09/2018 et des séances plénières du Comité scientifique des 26/10/2018 et 21/12/2018,

le Comité scientifique émet l'avis suivant :

3. Introduction

3.1. *Bacillus cereus*

B. cereus est une bactérie anaérobie facultative à Gram-positif pouvant former, dans des conditions de croissance défavorables, des spores résistantes à la chaleur (FDA, 2013). Ces bactéries et leurs spores sont largement répandues dans l'environnement et se retrouvent par conséquent dans de nombreuses denrées alimentaires. Par le biais de l'alimentation, des cellules végétatives, des spores ou des toxines de *B. cereus* peuvent aboutir dans le système digestif où elles peuvent provoquer deux types de maladie d'origine alimentaire. Le premier type, une intoxication alimentaire, se produit lorsque de l'ingestion d'aliments contaminés par le céréulide, la toxine émétique produite par certaines souches de *B. cereus*. Les symptômes, tels que nausées et vomissements, apparaissent de 0,5 à 6 heures après l'ingestion. Dans le second type, une toxi-infection, des aliments contaminés par des cellules végétatives et/ou des spores de *B. cereus* sont ingérés et permettent la production d'entérotoxine(s) dans l'intestin grêle. Dans ce cas, les symptômes apparaissent de 6 à 15 heures après l'ingestion; il s'agit notamment de diarrhée aqueuse, des crampes abdominales, de douleurs, de nausées et, plus rarement, de vomissements. La maladie est généralement bénigne et auto-limitante, avec des symptômes qui disparaissent après une journée, même si quelques rares cas graves, et même mortels, ont été rapportés (ANSES, 2011; Stenfors Arnesen et al., 2008).

Ces toxi-infections dues à la contamination par *B. cereus* sont généralement associées à des concentrations supérieures à 10^5 ufc/g (EFSA, 2016).

3.2. Le projet BACEREUS

Le SPF Santé publique, Sécurité de la chaîne alimentaire et Environnement a financé le projet de recherche 'BACEREUS' dans lequel le comportement du *B. cereus* dans l'estomac et l'intestin grêle a été étudié. L'objectif était de pouvoir améliorer l'estimation du risque que représentent différentes souches de *B. cereus* dans la chaîne alimentaire. Le projet BACEREUS a été réalisé de 2009-2012 par différents centres de recherche et institutions universitaires (ILVO, UGent, UCLouvain et ISP/WIV).

Les principales conclusions de ce projet et des recherches similaires sont les suivantes:

- Un modèle de simulation du tractus gastro-intestinal humain a montré une bonne survie des spores de *B. cereus* lors de la consommation et du passage dans le tractus gastro-intestinal. Il a également montré la germination de spores de *B. cereus* dans l'environnement intestinal, mais pas de croissance de celles-ci; les cellules végétatives possédaient, en revanche, une faible survie. La production d'entérotoxine n'a jamais été constatée dans ce système "*in vitro*". Les connaissances sur les mécanismes de production de toxines dans l'intestin font donc défaut. L'hypothèse suivante a été formulée: la croissance locale de *B. cereus* et la production d'entérotoxine n'interviennent qu'après une interaction avec le mucus et/ou l'épithélium intestinal de l'hôte.
- Une méthode basée sur la spectrométrie de masse MALDI-TOF a été développée pour détecter les entérotoxines Nhe (entérotoxine non hémolytique) et CytK (cytotoxine K) produites par des souches de *B. cereus*. Sur base des connaissances actuelles, ce sont principalement les entérotoxines CytK1 (associée à une diarrhée sanglante) et Nhe qui semblent être importantes. Le gène CytK2 est également courant, mais on ignore s'il s'agit d'un facteur de virulence. Il reste donc des incertitudes sur les gènes spécifiques (ou la combinaison de gènes) qui sont importants pour la production de toxines diarrhéiques par *B. cereus*.

3.3. Contexte de la demande d'avis

L'avis 27-2007 du Comité scientifique sur les limites d'action pour les contaminants microbiologiques relatifs aux toxines de *B. cereus* contient notamment la recommandation suivante au sujet de la toxine émétique et de la toxine diarrhéique de *B. cereus* : « Si, à ce niveau de contamination ($> 10^5$ ufc/g), la propriété de formation de toxine de la souche peut être établie par des essais de laboratoires, il est recommandé à l'AFSCA d'effectuer une évaluation des risques et, sur la base de celle-ci, de prendre les mesures de protection de la santé publique nécessaires. » (SciCom, 2007). Il ressort toutefois des résultats du projet de recherche BACEREUS que la présence de gènes de toxine n'est pas nécessairement liée à la production de toxine. La manière dont le risque pour la santé publique doit être évalué en cas d'ingestion de denrées alimentaires contaminées par un nombre élevé de cellules végétatives de *B. cereus* possédant la propriété de formation de toxine n'est donc pas claire. C'est la raison pour laquelle, un avis est à nouveau demandé au Comité scientifique, relatif au risque que représentent pour le consommateur des concentrations élevées de *B. cereus* ($> 10^5$ ufc/g). Cet avis porte tant sur les denrées alimentaires prêtes à la consommation que sur celles qui ne le sont pas. Cet avis concerne le groupe *B. cereus* et en particulier les souches de *B. cereus sensu stricto*.

4. Étude bibliographique

4.1. Structure de l'étude bibliographique

Une approche pragmatique est actuellement utilisée pour déterminer le niveau de contamination à partir duquel le *B. cereus* représente un risque potentiel pour le consommateur, à l'exception des aliments déshydratés pour nourrissons et des aliments diététiques déshydratés à usage médical pour les nourrissons de moins de six mois, pour lesquels une limite légale a été fixée. En Belgique, une limite d'action $> 10^5$ ufc/g ou ml est appliquée pour *B. cereus*. En cas de détection des concentrations élevées de cellules de *B. cereus* ($> 10^5$ ufc/g ou ml), les gènes de la toxine sont examinés. Compte tenu des nombreuses incertitudes concernant *B. cereus*, le Comité scientifique a jugé qu'il était utile d'étudier de manière structurée la littérature récente dans le cadre de ce dossier.

La littérature disponible sur *B. cereus* est vaste et complexe. L'évaluation du risque que représente *B. cereus* est, en outre, également complexe et dépend de nombreux facteurs. Le Comité scientifique est d'avis qu'il existe déjà de bons avis et synthèses sur *B. cereus* pouvant servir de point de départ, dont les avis du Conseil Supérieur de la Santé (CSS, 2010) et l'opinion scientifique de l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA, 2016). Dans le cadre du présent avis, une étude bibliographique a été réalisée selon une approche similaire à celle utilisée par l'EFSA (2016) pour les articles publiés à partir de 2016. L'approche complète de l'étude bibliographique figure à l'Annexe #1. Sur la base de ces articles récents, le Comité scientifique a examiné s'il existait ou non un *statu quo* des connaissances, par rapport à l'opinion scientifique de l'EFSA (2016).

4.2. Résultats de l'étude bibliographique

4.2.1. Taxonomie et pathogénicité du groupe *B. cereus*

Connaissances générales (EFSA, 2016): Le groupe *B. cereus* se compose de 9 espèces reconnues: *B. cereus sensu stricto* (ou *B. cereus s.s.*), *B. anthracis*, *B. thuringiensis*, *B. weihenstephanensis*, *B. mycoides*, *B. pseudomycoides*, *B. cytotoxicus*, *B. toyonensis* et l'espèce *Bacillus wiedmannii* décrite récemment (Miller *et al.*, 2016). D'autres espèces ont également été décrites, mais pas (encore) validées (notamment *Bacillus gaemokensis* (Jung *et al.*, 2010), *Bacillus manliponensis* (Jung *et al.*, 2011), *Bacillus bingmayongensis* (Liu *et al.*, 2014). Les gènes qui codent pour des propriétés importantes se retrouvent souvent sur des plasmides (potentiellement mobiles). Le Comité scientifique observe également que le transfert de gènes est possible entre souches/espèces du groupe *B. cereus*. Leurs fréquences dans la nature restent cependant largement inconnues.

Le groupe *B. cereus* produit différents facteurs de virulence potentiels pouvant agir de manière synergique au sein de l'hôte. Plusieurs entérotoxines présumées (Nhe, HBL et CytK) et la toxine émétique (céréulide) ont été associées à des infections par *B. cereus*. La capacité de production de toxine est toutefois fortement dépendante de la souche. La régulation de la production de toxine est complexe et dépend des systèmes de régulation transcriptionnelle, post-transcriptionnelle et traductionnelle (Jeßberger *et al.*, 2015). L'effet des entérotoxines est, en outre, encore largement inconnu. Outre ces entérotoxines, certaines souches du groupe *B. cereus* peuvent aussi produire d'autres facteurs de virulence, comme des phospholipases, sphingomyélinases, hémolysines ou métalloprotéinases, dont les effets doivent encore être étudiés de manière plus approfondie. Compte tenu de cette situation complexe, qui comporte encore de nombreuses incertitudes, il est difficile de

déterminer une dose infectieuse minimale pour *B. cereus*. En raison de la difficulté d'identifier les souches pathogènes, il convient de prendre en compte le fait que toute souche du groupe *B. cereus* peut être potentiellement pathogène.

Nouvelles connaissances (étude bibliographique): Plusieurs souches du groupe *B. cereus*, isolées à partir d'épices, montrent que non seulement *B. cereus* s.s. mais également certaines souches de *B. thuringiensis*, *B. weihenstephanensis* ou *B. toyonensis* peuvent potentiellement produire des entérotoxines (Frentzel *et al.*, 2018). Il est à noter que les isolats de *B. pseudomycoïdes*, généralement considérés comme des microorganismes inoffensifs, peuvent également être potentiellement cytotoxiques et peut-être pathogènes (Lee *et al.*, 2016; Miller *et al.*, 2018). La taxonomie du groupe *B. cereus* n'est donc pas un critère utilisable pour évaluer le risque pour la sécurité des denrées alimentaires associé à certains isolats. Les différentes souches présentent également une grande variété de toxicité. À titre d'exemple, du céréulide a été produit par une souche isolée de lait cru chinois, avec une toxicité 7-15 fois supérieure à celle de la souche émétique de référence de *B. cereus* (Cui *et al.*, 2018).

Il est, en outre, également important de noter qu'il n'existe pas d'association entre la présence de gènes de toxine, l'expression de protéines et la cytotoxicité des isolats. Il est donc vraisemblable que d'autres facteurs de virulence (inconnus) influencent également la cytotoxicité des isolats. Une étude fondamentale basée sur l'analyse du transcriptome établit qu'un grand nombre de gènes sont exprimés de manière différentielle au cours du cycle de vie de *B. cereus* (Bassi *et al.*, 2016). Cela montre qu'il reste encore beaucoup à apprendre sur les gènes qui ont un rôle important dans la cytotoxicité des souches de *B. cereus*. Les nouvelles données de la littérature confirment ainsi les conclusions de l'avis de l'EFSA.

4.2.2. Méthodes de détection, dénombrement et différenciation des membres du groupe *B. cereus*

Connaissances générales (EFSA, 2016): La méthode suivante est utilisée de façon standard pour la détection de *B. cereus*: les dénombrements directs se font à l'aide d'un milieu sélectif tel que le mannitol-jaune d'œuf-polymyxine (MYP). La confirmation d'isolats présumés de *B. cereus* se fait par un test d'hémolyse. Un premier problème avec cette approche est le fait que certaines souches de *B. cereus* ne sont pas hémolytiques. Un deuxième problème est le fait que d'autres espèces du groupe *B. cereus*, comme *B. thuringiensis*, sont également détectées par cette méthode.

Alors que la toxine céréulide est bien connue et relativement facile à détecter dans les denrées alimentaires, les entérotoxines constituent encore une 'boîte noire'. La réaction en chaîne par polymérase (PCR) est actuellement utilisée pour la détection des gènes de toxines potentielles. Comme indiqué plus avant, on peut toutefois se demander si cette approche détecte toutes les toxines impliquées dans le syndrome diarrhéique et, de surcroît, quelle est la relation entre la présence de ces gènes d'entérotoxines potentielles et la virulence éventuelle de la souche concernée.

Nouvelles connaissances (étude bibliographique): Nous présentons ci-dessous une synthèse des principales conclusions:

- La LAMP (Loop-mediated isothermal AMPLification) constitue une technologie intéressante; elle permet d'obtenir rapidement (< 1 heure) une détection de *B. cereus* à l'aide d'un simple appareil de lecture (Xia *et al.*, 2016). Cette technologie récente n'est actuellement utilisée que pour la recherche et non pour des analyses de routine.

- Le milieu standard MYP est normalement utilisé pour la détection et le dénombrement de *B. cereus* et des espèces apparentées à partir de denrées alimentaires. Des études ont montré que des milieux de culture alternatifs tels que le milieu Bacara™ étaient plus sélectifs (Kabir *et al.*, 2017).

- De nouvelles sondes chimiques ont été développées pour la détection de la toxine céréulide (García-Calvo *et al.*, 2017). Les sondes donnent un fort signal fluorescent en présence de cations. Le céréulide forme un complexe avec les cations disponibles, réduisant le signal fluorescent de la sonde. Cette méthode pourrait être utile dans le futur pour la détection rapide du céréulide dans des échantillons de produits alimentaires sur le terrain, mais étant donné qu'elle nécessite une optimisation supplémentaire, cette méthode n'est pas (encore) adaptée pour une application de routine.

- Pour les études de toxicité sur des cellules humaines, la température d'incubation semble constituer un facteur important, étant donné que des isolats de *B. weihenstephanensis* ne présentent pas de cytotoxicité à 37 °C, mais bien à des températures d'incubation plus basses (Miller *et al.*, 2018). La détermination de la cytotoxicité des isolats à 37 °C (= température du corps humain) semble donc intéressante par rapport aux méthodes utilisant des températures d'incubation plus basses.

En conclusion, il existe de nouveaux développements dans le domaine des méthodes de détection de *B. cereus*, mais aucune innovation ne peut être utilisée directement dans des applications de routine.

4.2.3. Présence et niveaux de *Bacillus* spp., et plus spécifiquement *B. cereus*, dans les denrées alimentaires et l'environnement

Connaissances générales (EFSA, 2016): *B. cereus* est largement présent dans l'environnement (e.g. sol et végétation). Peu d'informations sont toutefois disponibles sur le transfert de *Bacillus* spp. de l'environnement vers les denrées alimentaires. Dans les aliments, les spores de *B. cereus*, qui résistent à la chaleur, peuvent survivre à un traitement intensif. Les intoxications alimentaires sont généralement associées à des concentrations >10⁵ ufc/g, mais des cas de toxi-infections pour lesquelles les denrées alimentaires contenaient de 10³ à 10⁵ ufc/g ont aussi été constatés. Il faut également tenir compte du fait que *B. cereus* peut se multiplier dans les denrées alimentaires lors du stockage.

Nouvelles connaissances (étude bibliographie): De nouvelles données de prévalence sont disponibles pour plusieurs denrées alimentaires. Pour les fruits de mer prêts à la consommation, par exemple, la présence de *B. cereus* (> 10 ufc/g) variait de 13 % pour les calmars à 93 % pour les huîtres. Mais les concentrations de *B. cereus* étaient toujours inférieures à 10³ ufc/g (Kim *et al.*, 2017). Pour différents types de fromage originaires de Turquie, 10,4% se sont révélés positifs pour *B. cereus*, avec des dénombrements jusqu'à 3,8 x 10⁵ ufc/g (Yibar *et al.*, 2017). Pour le fromage frais *ricotta*, *B. cereus* a été retrouvé dans près de 16 % des échantillons, avec des concentrations toujours inférieures à 10 ufc/g (Scatassa *et al.*, 2018). Dans 602 repas scolaires, le nombre de *B. cereus* détecté était toujours inférieur à 10⁵ ufc/g (Petruzzelli *et al.*, 2018). L'analyse de 1.489 échantillons de denrées alimentaires

provenant d'un marché néerlandais montre la présence de *B. cereus* dans 5,4 % des cas, dont 0,7% où la concentration elle était $> 10^5$ ufc/g (Biesta-Peters *et al.*, 2016). Les denrées alimentaires riches en féculents et les légumes ont été identifiés comme étant les produits alimentaires les plus courants dans les toxi-infections alimentaires liées au *B. cereus* en France sur la période 2007-2014 (Glasset *et al.*, 2016).

La prévalence du *B. cereus* dans l'ensilage (qui n'a pas été traitée dans l'avis de l'EFSA) donne des concentrations rapportées avec un niveau maximum de 10^4 ufc/g (Driehuis *et al.*, 2018; Queiroz *et al.*, 2018). Compte tenu que l'ensilage n'est pas considéré comme une source importante de contamination du lait par *B. cereus* (Vissers *et al.*, 2007), le Comité scientifique considère que cette source de contamination des denrées alimentaires par *B. cereus* représente un risque faible. Plusieurs articles ont aussi étudié la prévalence de *B. cereus* dans des échantillons de lait (cru, pasteurisé ou UHT). Une observation inattendue est la présence, selon les auteurs, de *B. cereus* dans le lait UHT, et ce malgré le traitement thermique appliqué (Bartoszewicz *et al.*, 2017; Chavez *et al.*, 2017). Les explications possibles de cette présence dans du lait UHT seraient un contrôle insuffisant du processus UHT lui-même ou une post-contamination. Cependant, de manière générale, les nouvelles données de prévalence ont révélé peu de résultats surprenants. Les conclusions de l'opinion de l'EFSA sur la présence et les niveaux de *B. cereus* dans l'environnement et dans les aliments restent donc valables.

4.2.4. Possibilités de contrôle permettant de gérer la contamination des denrées alimentaires par les *Bacillus* spp. et leurs toxines

Connaissances générales (EFSA, 2016): Différentes stratégies peuvent être appliquées pour maîtriser le risque de *B. cereus*, dont un traitement thermique et une radiation destinés à inactiver les bactéries, ainsi qu'une gestion de la température visant à empêcher leur croissance pendant la conservation. La majorité des traitements d'inactivation sont efficaces contre les cellules végétatives, mais pas contre les spores de *B. cereus*. L'inactivation thermique des spores de *B. cereus* requiert des températures élevées (stérilisation ou UHT), mais une combinaison à haute pression peut accroître l'efficacité des processus thermiques à des températures plus basses. La toxine céréulide présente n'est, en outre, pas inactivée par les méthodes de traitement thermiques généralement utilisées. Les entérotoxines, en revanche, sont inactivées pendant le transit gastro-intestinal et ne présentent donc un risque que si elles se forment dans l'intestin grêle.

Nouvelles connaissances (étude bibliographique):

Le Comité scientifique est d'avis que la prévention de la germination et de la croissance de *B. cereus* devrait constituer un objectif important pour la surveillance de la sécurité alimentaire. Une importante mesure de gestion en matière de *B. cereus* consiste à stocker à 4°C. En effet, selon Porcellato *et al.*, lors du stockage du lait dans des boîtes à 4 °C, la composition bactérienne est restée stable pendant toute la durée de conservation du produit, avec des dénombrements de *B. cereus* faibles ou indétectables. Le stockage à 8°C a, en revanche, entraîné une augmentation du nombre de *Bacillus* spp. et une augmentation considérable du nombre de *B. cereus* présumés (Porcellato *et al.*, 2018). Le stockage à 4°C réduirait également la résistance à la chaleur des spores de *B. cereus*, mais ce phénomène doit encore être étudié de manière plus approfondie (Soni *et al.*, 2018).

Il est connu que les denrées alimentaires préparées, pouvant contenir des spores non inactivées de *B. cereus*, présentent un risque élevé d'intoxication alimentaire, parce que la germination et la croissance

de *B. cereus* sont possibles dans ces produits, en cas de stockage à une température inappropriée (> 4°C). Les denrées alimentaires préparées, comme les aliments préparés réfrigérés à longue durée de conservation, la purée de légumes, les légumineuses, les sauces, le riz, le poisson et les fruits de mer, le lait et les produits laitiers constituent des produits à risque (EFSA, 2016). Pour ces produits, la température de conservation constitue une mesure de gestion très importante.

Le Comité scientifique souhaite également attirer l'attention sur le fait que *B. cereus* peut former des biofilms (Fernandes *et al.*, 2017; Nadaraja *et al.*, 2017 ; Sadiq *et al.*, 2017). C'est donc un point d'attention pour l'industrie alimentaire. En conclusion, différentes stratégies peuvent être appliquées pour contrôler le risque de *B. cereus*, dont le stockage à 4 ° C qui reste l'une des mesures de contrôle les plus importantes. Une attention constante est également nécessaire pour les sources potentielles de contamination, tels que les biofilms.

4.3. Conclusions de l'étude bibliographique

À la suite de l'étude bibliographique, le Comité scientifique formule un certain nombre de conclusions générales:

- Sur la base de l'opinion d'experts, le Comité scientifique observe que de nombreux articles de qualité moyenne, voire médiocre, ont été trouvés dans la littérature. Bien qu'au final 80 articles aient été lus par les membres du groupe de travail, peu d'articles contenaient des informations susceptibles d'être reprises dans les chapitres précédents.
- Outre les souches de *B. cereus* s.s., certaines souches d'espèces différentes du groupe *B. cereus*, comme *B. thuringiensis*, *B. pseudomycoïdes* ou *B. cytotoxicus*, peuvent représenter un risque potentiel pour la chaîne alimentaire.
- L'observation de concentrations élevées de *B. cereus* (> 10⁵ ufc/g ou ml) est plutôt exceptionnelle et constitue donc une indication de l'existence d'une anomalie dans la production et/ou la conservation de la denrée alimentaire.
- Aucune nouvelle méthode de détection n'a été identifiée, qui puisse déboucher sur une (des) application(s) directe(s) dans les laboratoires de routine.
- Aucune idée fondamentalement nouvelle n'a été trouvée, qui donne lieu à une réévaluation des risques par rapport à l'opinion de l'EFSA de 2016. Les nombreuses incertitudes sur, notamment, la pathogénicité des différentes souches et la relation dose-réponse subsistent.

5. Dans quelle mesure l'utilisation de *B. thuringiensis* comme biopesticide est-elle sûre ?

Plusieurs souches commerciales de *B. thuringiensis* sont actuellement disponibles sur le marché belge et peuvent être achetées librement comme biopesticide. Si des produits pulvérisés avec un biopesticide à base de *B. thuringiensis* sont récoltés après une courte période d'attente (p.ex. après un seul jour), cela peut donner lieu à la détection des concentrations élevées de *B. cereus* présumé selon la méthode ISO, ce qui ne permet pas de distinguer *B. cereus* s.s. du *B. thuringiensis*. Des études sur le sort du *B. thuringiensis* après application comme biopesticide font état de demi-vies de 100 à 200 jours dans le sol et de 16 à 38 heures sur les feuilles d'une plante (EFSA, 2016). Les données disponibles sont

toutefois limitées; il est donc difficile de prédire combien de temps un biopesticide reste présent sur un végétal.

Le Comité scientifique observe que peu d'informations sont disponibles sur ces souches de *B. thuringiensis*. Dans l'avis de l'EFSA de 2016, il était recommandé de séquencer le génome de ces souches afin de permettre l'identification sans équivoque de ces souches utilisées comme biopesticides. Des marqueurs doivent, en outre, être identifiés pour ces souches commerciales de *B. thuringiensis*, en vue d'une identification simple et d'une différenciation facile vis-à-vis du *B. cereus*. Actuellement, ces marqueurs ne sont pas (encore) disponibles. Ces souches de *B. thuringiensis*, utilisées comme biopesticides, doivent également être analysées pour déterminer la présence de gènes de résistance aux antibiotiques cliniquement pertinents et potentiellement transmissibles.

Le Comité scientifique se demande si le contrôle de qualité des entreprises productrices de biopesticides à base de *B. thuringiensis* est suffisant pour garantir la sécurité de la chaîne alimentaire. Les entreprises s'intéressent principalement au bon fonctionnement du biopesticide (= la destruction d'insectes) et relativement peu aux risques possibles pour la sécurité alimentaire. L'utilisation de *B. thuringiensis* comme biopesticide a toutefois déjà une longue histoire - plus de 50 ans pour certaines souches (Rosas-García, 2009). Au cours de cette période, l'utilisation de *B. thuringiensis* comme biopesticide n'a pas provoqué de toxi-infections alimentaires, ce à quoi on aurait pu s'attendre si ces souches étaient pathogènes; celles-ci peuvent donc être considérées, avec une haute probabilité, comme sûres. Un article récent (Johler *et al.*, 2018) montre toutefois que certaines souches de *B. thuringiensis* utilisées comme biopesticide produisent des niveaux moyens d'entérotoxines potentielles. Il est donc important d'évaluer individuellement l'innocuité des souches de *B. thuringiensis* utilisées comme biopesticides. La question est de savoir quelle suite donner à des concentrations élevées de *B. thuringiensis* dans des denrées alimentaires prêtes à la consommation. Le Comité scientifique propose d'évaluer *B. thuringiensis* avec la même sévérité que *B. cereus* et d'utiliser la même limite d'action. Ceci en raison du fait que *B. thuringiensis* présente de grandes similitudes avec *B. cereus* sur le plan génétique et a également la possibilité de produire des entérotoxines potentielles.

6. Mesures à prendre en réponse à des concentrations élevées de *B. cereus* ou de *B. thuringiensis*

En général, des toxi-infections dues à la contamination par *B. cereus* sont associées à des concentrations supérieures à 10^5 ufc/g (EFSA, 2016). Les maladies résultant de la contamination des denrées alimentaires par de *B. cereus* (ou *B. thuringiensis*) sont généralement bénignes et "auto-limitantes", avec des symptômes qui disparaissent après une journée, même si quelques cas graves et même mortels ont cependant été rapportés (ANSES, 2011 ; Stenfors Arnesen *et al.*, 2008). Le Comité scientifique recommande d'envoyer des échantillons contenant des concentrations élevées ($> 10^5$ ufc/g ou ml de *B. thuringiensis* ou de *B. cereus*) au laboratoire de référence, pour une identification plus approfondie au niveau de l'espèce. Des connaissances seront ainsi acquises sur les souches en circulation de *B. cereus* et de *B. thuringiensis*. Le Comité scientifique observe qu'il n'existe pas de publication alarmante mentionnant que la présence de *B. thuringiensis* ou de *B. cereus* représenterait un problème majeur dans la pratique. Il est néanmoins possible que le nombre de cas de maladie dus à la consommation de nourriture contaminée au *B. cereus* ou au *B. thuringiensis* soit sous-estimé, étant

donné qu'un médecin n'est pas toujours consulté pour des symptômes légers de diarrhée. Sur la base des connaissances actuelles, des niveaux élevés des deux espèces (*B. cereus* et *B. thuringiensis*) sont considérés comme potentiellement dangereux ($> 10^5$ ufc/g ou ml). Le Comité scientifique recommande de prendre des mesures sur la base de la limite d'action, pour *B. cereus* (ou *B. thuringiensis*), de 10^5 ufc/g ou ml. Le risque est peut-être moindre pour certaines souches non cytotoxiques de *B. thuringiensis* utilisées comme biopesticide. A l'avenir, si des marqueurs fiables et facilement détectables pour ces souches sont disponibles, les limites d'action pourraient être réévaluées.

7. Incertitudes

Plusieurs incertitudes doivent être prises en compte dans cet avis.

Incertitudes concernant la dose d'infection en cas de toxi-infection (réponse à la dose, variabilité entre les souches, autres facteurs)

Il faut tenir compte du fait que la croissance de *B. cereus* est possible dans des différents aliments. En outre, il existe de nombreuses variations entre souches de *B. cereus*. Ainsi, la capacité de production de toxines dépend fortement de la souche. En général, les toxi-infections dues à la contamination par *B. cereus* sont associées à des concentrations supérieures à 10^5 cfu / g (EFSA, 2016). Mais la maladie peut aussi résulter de concentrations plus faibles, aussi bien pour le syndrome de l'émétique que pour celui de la diarrhée. Compte tenu de la situation complexe et des nombreuses incertitudes, il est difficile de déterminer une dose infectieuse minimale pour *B. cereus*.

Incertitudes concernant la définition des souches pathogènes

La taxonomie du groupe *B. cereus* n'est pas un critère valable pour évaluer le risque pour la sécurité des denrées alimentaires associé à certains isolats. A l'exception des souches émétiques (produisant le céréulide), il n'existe pas de corrélation simple entre la présence de gènes de toxines potentielles, leurs expressions et la virulence des isolats. De plus, il existe une incertitude sur les gènes spécifiques (ou la combinaison de gènes) qui sont importants pour la production d'entérotoxines par le *B. cereus*, ainsi que sur les mécanismes de production et des effets des entérotoxines dans l'intestin. Certaines souches d'espèces différentes du groupe *B. cereus*, y compris *B. cereus s.s.*, *B. thuringiensis*, *B. pseudomycoïdes* et *B. cytotoxicus*, peuvent donc être potentiellement pathogènes.

Incertitudes concernant le nombre de maladies

Il est possible que le nombre de cas de maladies dues à la consommation d'aliments contaminés par *B. cereus* (ou *B. thuringiensis*) soit sous-estimé, car un médecin n'est pas toujours consulté pour des symptômes légers de diarrhée. Il n'est pas toujours possible non plus d'identifier *B. cereus* (ou *B. thuringiensis*) en tant que cause de la maladie d'origine alimentaire.

Incertitudes des méthodes de détection

La méthode utilisée de façon standard pour la détection de *B. cereus* présente un certain nombre de limitations. La confirmation des isolats «présumés» de *B. cereus* repose sur un test d'hémolyse, mais

certaines souches de *B. cereus* ne sont pas hémolytiques. De plus, d'autres espèces du groupe *B. cereus* telles que *B. thuringiensis* sont également détectées par cette méthode. Les données actuelles sur *B. cereus* « présumés » n'incluent donc pas uniquement les données sur les souches de *B. cereus sensu stricto*.

8. Conclusions

À l'issue de l'étude bibliographique, il apparaît qu'il n'y a pas d'informations nouvelles pertinentes par rapport à l'opinion de l'EFSA (EFSA, 2016) sur les risques pour le consommateur quant à la présence de *B. cereus* dans les denrées alimentaires, tant pour ce qui concerne les cellules végétatives que pour les spores et les toxines. Le Comité scientifique est d'avis que les nouvelles informations disponibles sont insuffisantes pour effectuer une réévaluation des risques relatifs au *B. cereus*. L'évaluation des risques de l'EFSA est donc toujours considérée comme valide. Il subsiste de nombreuses incertitudes sur, notamment, la pathogénicité des différentes souches de *B. cereus* et la relation dose-réponse.

Sur base des connaissances actuelles, et exception faite des souches produisant le céréulide, il n'est pas possible de corrélérer la présence de certains gènes de toxine, ou de leurs niveaux d'expression, avec la virulence potentielle des isolats, de sorte que la présence de gènes de virulence est insuffisante pour permettre de tirer des conclusions sur les risques pour le consommateur. Une bonne différenciation entre les différentes espèces de *Bacillus*, en particulier *B. cereus* et *B. thuringiensis*, reste également difficile. La présence de concentrations élevées de *B. cereus* (10^5 ufc/g ou ml) dans les denrées alimentaires est considérée comme un risque accru pour le consommateur, étant donné que les intoxications alimentaires dues à la contamination par *B. cereus* sont généralement associées à des concentrations $> 10^5$ ufc/g (EFSA, 2016). Sur la base de ces conclusions, le Comité scientifique recommande, compte tenu des incertitudes, d'utiliser une limite d'action pragmatique pour *B. cereus* (10^5 ufc/g ou ml). Pour les souches de *B. thuringiensis*, y compris les souches utilisées comme biopesticides, le Comité scientifique recommande également, compte tenu des incertitudes, que la limite d'action pragmatique de 10^5 cfu / ml ou ml soit utilisée.

En cas de messages RASFF au sujet de *B. cereus* à des concentrations inférieures à 10^5 ufc/g, un rappel du produit peut être nécessaire en Belgique, en fonction de la situation. Le Comité scientifique est d'avis que la présence de faibles concentrations de *B. cereus* peut, dans certains cas, être une indication de l'existence d'un problème sous-jacent. Aucune présence de *B. cereus* n'est, par exemple, attendue dans des denrées alimentaires stériles. La présence de *B. cereus* peut, dans un tel cas, révéler un problème dans le traitement thermique (stérilisation) ou une recontamination du produit lors de la production, de la transformation ou du stockage du produit.

9. Recommandations

Le Comité scientifique recommande de prendre des mesures sur la base de la limite d'action, pour *B. cereus*, de 10^5 ufc/g ou ml. Cette limite d'action est indépendante de la présence de gènes de virulence, étant donné que les connaissances actuelles sont insuffisantes pour permettre d'être plus précis. Le Comité scientifique recommande d'envoyer des échantillons contenant des concentrations élevées ($> 10^5$ ufc/g ou ml de *B. thuringiensis* ou de *B. cereus*) au laboratoire de référence, pour une identification plus approfondie au niveau de l'espèce, afin d'accroître les connaissances pour le futur. Le Comité

scientifique est en outre d'avis que d'autres espèces du groupe *B. cereus*, comme *B. thuringiensis*, devraient être soumises à la même limite d'action. Si suffisamment de nouvelles informations sont disponibles dans le futur, cette limite d'action pourrait être réévaluée pour *B. cereus* et d'autres espèces du groupe *B. cereus*. Enfin, il est recommandé de séquencer et d'analyser les souches de *B. thuringiensis* utilisées comme biopesticide et d'analyser ces souches pour la présence de gènes de résistance aux antibiotiques cliniquement pertinents.

Pour le Comité scientifique,
Le Président,

Prof. Dr. E. Thiry (Sé.)
Bruxelles, le 14/01/2019

Références

- ANSES (2011). Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments : "*Bacillus cereus*" Disponible via le lien: <https://www.anses.fr/fr/system/files/MIC2011sa0116Fi.pdf>
- Bartoszewicz M., Marjańska P. S. (2017). Milk-originated *Bacillus cereus sensu lato* strains harbouring *Bacillus anthracis*-like plasmids are genetically and phenotypically diverse. *Food Microbiol.* 67, 23–30. doi: 10.1016/j.fm.2017.05.009
- Bassi D., Colla F., Gazzola S., Puglisi E., Delledonne M., Cocconcelli P. (2016). Transcriptome analysis of *Bacillus thuringiensis* spore life, germination and cell outgrowth in a vegetable-based food model. *Food Microbiol.* 55: 73-85. doi:10.1016/j.fm.2015.11.006
- Biesta-Peters E.G., Dissel S., Reij M.W., Zwietering M.H., In't Veld P.H. (2016). Characterization and Exposure Assessment of Emetic *Bacillus cereus* and Cereulide Production in Food Products on the Dutch Market. *J. Food Prot.* 79(2): 230-238 doi: 10.4315/0362-028X.JFP-15-217
- Chaves, J. Q., de Paiva E. P., Rabinovitch L., Vivoni A. M. (2017). Molecular characterization and risk assessment of *Bacillus cereus sensu lato* isolated from ultrahigh-temperature and pasteurized milk marketed in Rio de Janeiro. Brazil. *J. Food Prot.* 80, 1060–1065. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-16-448
- CSS, (2010). Avis CSS Nr. 8316 de janvier 2010. Profil de risque pour le Groupe *Bacillus cereus* dans les toxi-infections d'origine alimentaire: situation en Belgique et recommandations. Disponible via le lien: https://healthpr.belgium.be/sites/default/files/uploads/fields/fpshealth_theme_file/18060669/Profil%20de%20Orisque%20pour%20le%20Groupe%20Bacillus%20cereus%20dans%20les%20toxi-infections%20d%E2%80%99origine%20alimentaire%3A%20situation%20en%20Belgique%20et%20recommandations%20%28janvier%202010.pdf
- Cui Y., Liu Y., Liu X., Xia X., Ding S., Zhu K. (2016). Evaluation of the toxicity and toxicokinetics of cereulide from an emetic *Bacillus cereus* strain of milk origin. *Toxins*, 8 (6): 156 doi: 10.3390/toxins8060156
- Driehuis F., Wilkinson J.M., Jiang Y., Ogunade I., Adesogan A.T. (2018). Silage review: Foodborne pathogens in silage and their mitigation by silage additives. *J. Dairy Sci.* 101(5): 4093-4110 doi: 10.3168/jds.2017-13901
- EFSA, (2016). Risks for public health related to the presence of *Bacillus cereus* and other *Bacillus* spp. Including *Bacillus thuringiensis* in foodstuffs. *EFSA J.* 14(7): 4524
- FDA, (2013). Bad Bug Book. Handbook of Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins. Disponible via le lien: <http://www.fda.gov/downloads/Food/FoodSafety/Foodbornellness/FoodbornellnessFoodbornePathogensNaturalToxins/BadBugBook/UCM297627.pdf>
- Fernandes M. D. S., Alvares A. C. C., Manoel J. G. M., Esper L. M. R., Kabuki D. Y., Kuaye A. Y. (2017). Formation of multi-species biofilms by *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*, and *Bacillus cereus* isolated from ricotta processing and effectiveness of chemical sanitation procedures. *Int. Dairy J.* 72:23-28 doi:10.1016/j.idairyj.2017.03.016
- Frentzel H., Kraushaar B., Krause G., Bodi D., Wichmann-Schauer H., Appel B., Mader A. (2018). Phylogenetic and toxinogenic characteristics of *Bacillus cereus* group members isolated from spices and herbs. *Food Contr.* 83: 90-98. doi: 10.1016/j.foodcont.2016.12.022
- García-Calvo J., Ibeas S., Antón-García E.-C., Torroba T., González-Aguilar G., Antunes W., González-Lavado E., Fanarraga M. L. (2017). Potassium-Ion-Selective Fluorescent Sensors To Detect Cereulide, the Emetic Toxin of *B. cereus*, in Food Samples and HeLa Cells. *ChemistryOpen* 6(4):562-570 doi: 10.1002/open.201700057
- Glasset B., Herbin S., Guillier L., Cadel-Six S., Vignaud M., Grout J., Pairaud S., Michel V., Hennekinne J., Ramarao N., Brisabois A. (2016). *Bacillus cereus*-induced food-borne outbreaks in France, 2007 to 2014: epidemiology and genetic characterisation. *Euro Surveill.* 21(48):pii=30413 doi: 10.2807/1560-7917

- Jeßberger N., Krey V. M., Rademacher C., Böhm M.-E., Mohr A.-K., Ehling-Schulz M., Scherer S., Märtlbauer E. (2015). From genome to toxicity: a combinatory approach highlights the complexity of enterotoxin production in *Bacillus cereus*. *Front. Microbiol.* 6:560. doi: 10.3389/fmicb.2015.00560
- Jung M.Y., Paek W.K., Park I.S., Han J.R., Sin Y., Paek J., Rhee M.S., Kim H., Song H.S., Chang Y.H. (2010). *Bacillus gaemokensis* sp. nov., isolated from foreshore tidal flat sediment from the Yellow Sea. *J. Microbiol.* 48:867-871. doi: 10.1007/s12275-010-0148-0
- Jung M.Y., Kim J.S., Paek W.K., Lim J., Lee H., Kim P.I., Ma J.Y., Kim W., Chang Y.H. (2011). *Bacillus manliponensis* sp. nov., a new member of the *Bacillus cereus* group isolated from foreshore tidal flat sediment. *J. Microbiol.* 49:1027-1032. doi: 10.1007/s12275-011-1049-6
- Kabir M.S., Hsieh Y.H., Simpson S., Kerdahi K., Sulaiman I.M. (2017). Evaluation of two standard and two chromogenic selective media for optimal growth and enumeration of isolates of 16 unique *Bacillus* species. *J. Food Prot.* 80:952–962 doi: 10.4315/0362-028X.JFP-16-441
- Kim H.W., Hong Y.J., Jo J.I., Ha S.D., Kim S.H., Lee H.J., Rhee M.S. (2017). Raw ready-to-eat seafood safety: microbiological quality of the various seafood species available at fishery, hyper, and online market. *Let. Appl. Microbiol.* 64:27-34 doi: 10.1111/lam.12688
- Lee W. , Kim H., Kim K. (2016). Isolation and Characterization of Spore-Forming Bacilli (SFB) from Shepherd's Purse (*Capsella bursa-pastoris*). *J. Food Science*,81:M684-M691. doi:10.1111/1750-3841.13231
- Liu B., Liu G.H., Hu G.P., Sengonca C., Lin N.Q., Tang J.Y., Tang W.Q., Lin Y.Z. (2014). *Bacillus bingmayongensis* sp. nov., isolated from the pit soil of Emperor Qin's Terra-cotta warriors in China. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 105:501-510. doi: 10.1007/s10482-013-0102-3
- Miller R. A., Jian J., Ben, S. M., Wiedmann M., Kovac J. (2018). Intraclade Variability in Toxin Production and Cytotoxicity of *Bacillus cereus* Group Type Strains and Dairy-Associated Isolates. *Appl. Environ. Microbiol.* 84(6):e02479-17 doi: 10.1128/AEM.02479-17
- Miller R.A., Beno S.M., Kent D.J., Carroll L.M., Martin N.H., Boor K.J., Kovac J. (2016). *Bacillus wiedmannii* sp. nov., a psychrotolerant and cytotoxic *Bacillus cereus* group species isolated from dairy foods and dairy environments. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 66: 4744–4753. doi: 10.1099/ijsem.0.001421
- Nadaraja A. V., Nair A. J., Prameela M., Hari N., Balakrishnan N. (2017). Evaluation of currently employed food preservation conditions to tackle biofilm forming food pathogens. *J. Food Safety.* 38:e12407 doi: 10.1111/jfs.12407
- Petruzzelli A., Osimani A., Tavoletti S., Clementi F., Vetrano V., Di Lullo S., Paolini F., Fogliani M., Micci E., Oraziotti N., Luchetti T., Tonucci F. (2018). Microbiological quality assessment of meals and work surfaces in a school deferred catering system. *Int. J. Hosp. Manag.* 68:105-114 doi: 10.1016/j.ijhm.2017.10.003
- Porcellato D., Aspholm M., Skeie B. S., Monshaugen M., Brendehaug J., Mellegård H. (2017). Microbial diversity of consumption milk during processing and storage. *Int. J. Food Microbiol.* 266:21-30 doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2017.11.004
- Queiroz O. C. M., Ogunade I. M., Weinberg Z., Adesogan A. T., (2018). Silage review: Animal and human health risks from silage. *J. Dairy Sci.* 101(5):4132-4142 doi: 10.3168/jds.2017-13836
- Rosas-Garcia N. M. (2009). Biopesticide Production from *Bacillus thuringiensis*: An Environmentally Friendly Alternative. *Rec. Patents Biotechnol.* 3:28-36. doi: 10.2174/187220809787172632
- Sadiq F.A., Flint S., Yuan L., Li Y., Liu T., He G. (2017). Propensity for biofilm formation by aerobic mesophilic and thermophilic spore forming bacteria isolated from Chinese milk powders. *Int. J. Food Microbiol.* 262:89-98 doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2017.09.015

- Scatassa M. L., Mancus, I., Sciortino S., Macaluso G., Palmeri M., Arcuri L., Todaro M., Cardamone C. (2018). Retrospective study on the hygienic quality of fresh ricotta cheeses produced in Sicily, Italy. *Ital. J. Food Safety* 7(1):6911. doi: 10.4081/ijfs.2018.6911
- SciCom, (2007). Avis 27-2007 du Comité scientifique du 14 septembre 2007. Limites d'action pour les contaminants microbiologiques *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, les toxines de *Staphylococcus aureus* et les toxines de *Bacillus cereus*. (dossier Sci Com 2006/25ter). Disponible via le lien: http://www.afsca.be/comitescientifique/avis/2007/ documents/AVIS27-2007 FR DOSSIER2006_25 ter.pdf
- Stenfors Arnesen L. P., Fagerlund A., Granum P. E. (2008). From soil to gut: *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins, *FEMS Microbiol. Rev.*, 32 (4): 579-606. doi: 10.1111/j.1574-6976.2008.00112.x
- Soni A., Oey I., Silcock P., Bremer P.J. (2018). Impact of temperature, nutrients, pH and cold storage on the germination, growth and resistance of *Bacillus cereus* spores in egg white. *Food Res. Int.* 106:394-403. doi: 10.1016/j.foodres.2018.01.006
- Vissers M. M. M., Driehuis F., Te Giffel M. C., De Jong P., Lankveld J. M. G. (2007). Quantification of the transmission of microorganisms to milk via dirt attached to the exterior of teats. *J. Dairy Sci.* 90:3579–3582. doi: 10.3168/jds.2006-633
- Xia Y., Liu Z., Yan S., Yin F., Feng X., Liu B.-F. (2016) Identifying multiple bacterial pathogens by loop-mediated isothermal amplification on a rotate & react slipchip. *Sens. Actuators B Chem.* 228: 491–499. doi: 10.1016/j.snb.2016.01.074
- Yibar A., Cetinkaya F., Soyutemiz E., Yaman G. (2017). Prevalence, enterotoxin production and antibiotic resistance of *Bacillus cereus* isolated from milk and cheese. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.* 23:635-642. doi: 10.9775/kvfd.2017.17480

Présentation du Comité scientifique de l'AFSCA

Le Comité scientifique (SciCom) est un organe consultatif de l'Agence fédérale belge pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire (AFSCA) qui rend des **avis scientifiques indépendants** en ce qui concerne l'évaluation et la gestion des risques dans la chaîne alimentaire, et ce sur demande de l'administrateur délégué de l'AFSCA, du ministre compétent pour la sécurité alimentaire ou de sa propre initiative. Le Comité scientifique est soutenu administrativement et scientifiquement par la Direction d'encadrement pour l'évaluation des risques de l'Agence alimentaire.

Le Comité scientifique est composé de 22 membres, nommés par arrêté royal sur base de leur expertise scientifique dans les domaines liés à la sécurité de la chaîne alimentaire. Lors de la préparation d'un avis, le Comité scientifique peut faire appel à des experts externes qui ne sont pas membres du Comité scientifique. Tout comme les membres du Comité scientifique, ceux-ci doivent être en mesure de travailler indépendamment et impartialement. Afin de garantir l'indépendance des avis, les conflits d'intérêts potentiels sont gérés en toute transparence.

Les avis sont basés sur une évaluation scientifique de la question. Ils expriment le point de vue du Comité scientifique qui est pris en consensus sur la base de l'évaluation des risques et des connaissances existantes sur le sujet.

Les avis du Comité scientifique peuvent contenir des **recommandations** pour la politique de contrôle de la chaîne alimentaire ou pour les parties concernées. Le suivi des recommandations pour la politique est la responsabilité des gestionnaires de risques.

Les questions relatives à un avis peuvent être adressées au secrétariat du Comité scientifique : Secretariat.SciCom@afsca.be

Membres du Comité scientifique

Le Comité scientifique est composé des membres suivants :

S. Bertrand^a, M. Buntinx, A. Clinquart, P. Delahaut, B. De Meulenaer, N. De Regge, S. De Saeger, J. Dewulf, L. De Zutter, M. Eeckhout, A. Geeraerd, L. Herman, P. Hoet, J. Mahillon, C. Saegerman, M.-L. Scippo, P. Spanoghe, N. Speybroeck, E. Thiry, T. van den Berg, F. Verheggen, P. Wattiau^b

Conflit d'intérêts

Aucun conflit d'intérêts n'a été signalé.

^a Jusqu'en mars 2018

^b Jusqu'au 17 juin 2018

Remerciements

Le Comité scientifique remercie la Direction d'encadrement pour l'évaluation des risques et les membres du groupe de travail pour la préparation du projet d'avis. Le Comité scientifique remercie également L. Herman et T. van den Berg pour le deep reading de l'avis.

Composition du groupe de travail

Le groupe de travail était composé de :

Membres du Comité scientifique :	J. Mahillon (rapporteur), L. De Zutter, A. Geeraerd, P. Wattiau (Jusqu'au 17/06/2018)
Experts externes :	N. Botteldoorn (Sciensano), M. Heyndrickx (ILVO), P. Melin (ULiège), C. Michiels (KULeuven), A. Rajkovic (UGent)
Gestionnaires du dossier :	K. Feys

Les activités du groupe de travail ont été suivies par les membres de l'administration suivants (comme observateurs) : V. Cantaert (AFSCA)

Cadre juridique

Loi du 4 février 2000 relative à la création de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire, notamment l'article 8 ;

Arrêté royal du 19 mai 2000 relatif à la composition et au fonctionnement du Comité scientifique institué auprès de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire ;

Règlement d'ordre intérieur visé à l'article 3 de l'arrêté royal du 19 mai 2000 relatif à la composition et au fonctionnement du Comité scientifique institué auprès de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire, approuvé par le Ministre le 8 juin 2017.

Disclaimer

Le Comité scientifique conserve à tout moment le droit de modifier cet avis si de nouvelles informations et données deviennent disponibles après la publication de cette version.

Annexe #1: Approche de l'étude bibliographique adoptée

L'opinion scientifique de l'EFSA de 2016 donne un bon aperçu des connaissances existantes sur le *B. cereus* et d'autres *Bacillus* spp. jusqu'en 2016 et sert de point de départ à l'étude bibliographique réalisée dans le cadre du présent dossier.

- **Recherche dans Web of Science (Effectuée le 20 juin 2018)**

Critères de recherche:

Période : 2016-2018

Termes de recherche:

AND	cereus
AND	<i>vegetable OR fruit OR crop OR fresh produce OR leafy greens OR meal OR salad OR cereal OR spice OR herb OR seed OR pulses OR berry OR berries OR sprout OR mushroom OR potato OR potatoe OR nut OR coconut OR honey OR cocoa OR chocolate OR coffee OR tea OR ready-to-eat OR ready to eat OR RTE OR soup OR sauce OR dressing OR oil OR meat OR milk OR dairy OR cheese OR egg OR shellfish OR mollusc OR crustacean OR surimi OR snail OR fish OR fishery product OR gastropod OR bakery product OR sweet OR confectionery product OR infant formula OR beverage OR water OR juice OR tuber OR leafy brassica OR fungi OR legume</i>
AND	<i>prevalence OR occurrence OR incidence OR enumeration OR quantification OR monitoring OR presence OR detection OR count OR level OR isolation OR identification</i>
AND	toxin* OR toxic* OR virul* OR pathogeni*

(*marquage* : termes de recherche repris littéralement d'EFSA, 2016)

Résultats: 186 articles

- **Recherche d'articles sur la base du titre et du synopsis**

Une première recherche a été effectuée sur la base des informations contenues dans le synopsis et le titre. Si les informations dans le titre et le synopsis ne sont pas pertinentes pour le présent dossier, l'article n'est pas retenu pour l'évaluation du texte complet. Pour tous les articles retenus, nous avons également examiné à quelle section de l'opinion scientifique de l'EFSA (2016) ils correspondaient le mieux.

Les articles sont subdivisés par sujet, par analogie avec l'EFSA (2016):

- 1. Le genre *Bacillus*
- 2. Pathogénicité et facteurs de virulence contributifs dans le groupe *B. cereus*
- 3. Méthodes de détection, de dénombrement et de différenciation de membres du groupe *B. cereus*
- 4. Réservoirs, prévalence naturelle du fond et niveaux de *Bacillus thuringiensis* dans l'environnement

- 5. Présence et niveaux de *Bacillus* spp., en particulier de *B. cereus*, dans les denrées alimentaires
- 6. Mesures de gestion permettant de contrôler la contamination de denrées alimentaires par les *Bacillus* spp. et leurs toxines

Les membres du groupe de travail ont été invités à lire les sections pertinentes de l'opinion scientifique de l'EFSA (2016), afin que les informations de l'EFSA (2016) puissent, si possible, être mises à jour à l'aide des articles sélectionnés.

Résultat: 80 articles (Voir Annexe #2)

- **Synthèse des articles**

Tous les membres du groupe de travail ont reçu une liste d'articles à lire (chaque article est évalué par un expert du groupe de travail) et un fichier structuré permettant d'en élaborer une synthèse de manière structurée. Les questions suivantes ont été reprises dans le fichier:

- **Données générales:** Auteurs, titre, année
- **Pertinent pour le présent dossier ?**
 - o Non: stop
 - o Oui: question suivante
- **Pertinent pour la section sélectionnée ?**
 - o Non: Pertinent pour une autre section ? Oui: Compléter le questionnaire de la section pertinente
 - o Oui: Compléter le questionnaire de la section pertinente
- **Nouvelle information par rapport à la section sélectionnée ?**
 - o Oui: quelle information ?
 - o Non: ne pas compléter les questions spécifiques
- **Questions spécifiques par section :**
 - o 1. Le genre *Bacillus*
 - Espèce:
 - Méthode utilisée:
 - Plasmide(s):
 - Résistance antimicrobienne:
 - Éléments génétiques extrachromosomiques:
 - o 2. Pathogénicité et facteurs de virulence contributifs dans le groupe *B. cereus*
 - Pathogénicité:
 - Facteur(s) de virulence:
 - Toxine(s):
 - Résistance antimicrobienne:
 - Gène(s) spécifique(s):
 - o 3. Méthodes de détection, de dénombrement et de différenciation de membres du groupe *B. cereus*
 - Méthode utilisée:
 - Contamination naturelle ou artificielle:

- Avantages de la méthode:
 - Inconvénients de la méthode:
 - 4. Réservoirs, prévalence naturelle du fond et niveaux de *B. thuringiensis* dans l'environnement
 - Où *B. cereus* apparaît-il dans l'environnement:
 - Quantité de *B. cereus*:
 - Survie du *B. cereus*:
 - Transfert possible vers la nourriture ?
 - 5. Présence et niveaux de *Bacillus* spp., en particulier de *B. cereus*, dans les denrées alimentaires
 - Dose de *B. cereus* infectieuse:
 - Catégorie de la denrée alimentaire: prête ou pas prête à la consommation
 - Denrée alimentaire:
 - Présence de spores:
 - 6. Mesures de gestion permettant de contrôler la contamination de denrées alimentaires par les *Bacillus* spp. et leurs toxines
 - Mesures de gestion:
 - Méthode d'inactivation du *B. cereus*:
 - Méthode d'inactivation de la toxine:
- **Remarque(s)/autres informations pertinentes pour le présent dossier:**

- **Discussion des articles**

Pour tous les articles pertinents, une synthèse des nouvelles informations par rapport à l'opinion de l'EFSA de 2016 est établie et mise à la disposition du groupe de travail. Ces informations sont discutées de manière plus approfondies au cours d'une réunion du groupe de travail dans le cadre du présent dossier.

Annexe #2: Liste des articles pertinents (étude bibliographique)

Un aperçu des 80 articles retenus sur la base de l'information dans le titre et le synopsis. Ces articles ont été lus par un membre du groupe de travail et les nouvelles informations pertinentes ont été communiquées à tous les membres du groupe de travail et reprises dans le présent avis.

Titre	Auteur(s)	Année
A Meta-Analysis of Major Foodborne Pathogens in Chinese Food Commodities Between 2006 and 2016	Paudyal, N; Pan, H; Liao, XY; Zhang, X; Li, XL; Fang, WH; Yue, M	2018
A Rapid and Simple Real-Time PCR Assay for Detecting Foodborne Pathogenic Bacteria in Human Feces	Hanabara, Y; Ueda, Y	2016
A Study To Assess the Numbers and Prevalence of Bacillus cereus and Its Toxins in Pasteurized Fluid Milk	Saleh-Lakha, S; Leon-Velarde, CG; Chen, S; Lee, S; Shannon, K; Fabri, M; Downing, G; Keown, B	2017
Asymmetric polymerase chain assay combined with propidium monoazide treatment and unmodified gold nanoparticles for colorimetric detection of viable emetic Bacillus in milk	Li, F; Li, FL; Yang, GT; Aguilar, ZP; Lai, WH; Xu, HY	2018
Bacillus cereus hazard and control in industrial dairy processing environment	Kumari, S; Sarkar, PK	2016
Bacillus cereus in fresh ricotta: Comparison of growth and Haemolysin BL production after artificial contamination during production or post processing	Tirioni, E; Ghelardi, E; Celandroni, F; Bernardi, C; Casati, R; Rosshaug, PS; Stella, S	2017
Bacillus cereus-induced food-borne outbreaks in France, 2007 to 2014: epidemiology and genetic characterisation	Glasset, B; Herbin, S; Guillier, L; Cadel-Six, S; Vignaud, M; Grout, J; Pairaud, S; Michel, V; Hennekinne, J; Ramarao, N; Brisabois, A	2016
Bacteriophages of soil bacilli: A new multivalent phage of Bacillus altitudinis	Shah Mahmud, R; Garifulina, KI; Ulyanova, VV; Evtugyn, VG; Mindubaeva, LN; Khazieva, LR; Dudkina, EV; Vershinina, VI; Kolpakov, AI; Ilinskaya, ON	2017
Changes in microbial composition and the prevalence of foodborne pathogens in crab marinated in soy sauce produced by six manufacturing plants	Kim, SA; Choi, ES; Kim, NH; Kim, HW; Lee, NY; Cho, TJ; Jo, JI; Kim, SH; Lee, SH; Ha, SD; Rhee, MS	2017
Characterization and Exposure Assessment of Emetic Bacillus cereus and Cereulide Production in Food Products on the Dutch Market	Biesta-Peters, EG; Dissel, S; Reij, MW; Zwietering, MH; in't Veld, PH	2016
Characterization of Bacillus cereus isolates from local dairy farms in China	Cui, YF; Liu, XY; Dietrich, R; Martlbauer, E; Cao, J; Ding, SY; Zhu, K	2016
Characterization of Enterotoxigenic Bacillus cereus sensu lato and Staphylococcus aureus Isolates and Associated Enterotoxin Production Dynamics in Milk or Meat-Based Broth	Walker-York-Moore, L; Moore, SC; Fox, EM	2017
Comparative genomic survey of Bacillus cereus sensu stricto isolates from the dairy production chain in Brazil	Rossi, GAM; Silva, HO; Aguilar, CEG; Rochetti, AL; Pascoe, B; Meric, G; Mourkas, E; Hitchings, MD; Mathias, LA; Ruiz, VLD; Fukumasu, H; Sheppard, SK; Vidal, AMC	2018
Contamination and characterization of multiple pathogens in powdered formula at retail collected between 2014 and 2015 in China	Gan, X; Dong, YP; Yan, SF; Hu, YJ; Fanning, SN; Wang, JH; Li, FQ	2018
Contamination patterns and molecular typing of Bacillus cereus in fresh-cut vegetable salad processing	Kim, HJ; Koo, M; Hwang, D; Choi, JH; Kim, SM; Oh, SW	2016
Control of Bacillus cereus spore germination and outgrowth in cooked rice during chilling by nonorganic and organic apple, orange, and potato peel powders	Juneja, VK; Friedman, M; Mohr, TB; Silverman, M; Mukhopadhyay, S	2017
Detection of viable enterotoxin-producing Bacillus cereus and analysis of toxigenicity from ready-to eat foods and infant formula milk powder by multiplex PCR	Zhang, ZH; Peng, LX; Xu, HY; Liu, CW; Shah, NP; Wei, H	2016
Development and validation of ultra-high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry methods for the simultaneous	Decler, M; Rajkovic, A; Sas, B; Madder, A; De Saeger, S	2016

determination of beauvericin, enniatins and cereulid in maize weat pasta en rice		
Distribution and expression of the enterotoxin genes of <i>Bacillus cereus</i> in food products from Jiangxi Province, China	Li, F; Zuo, S; Yu, P; Zhou, BQ; Wang, LJ; Liu, CW; Wei, H; Xu, HY	2016
Diversity and enzymatic potentialities of <i>Bacillus</i> sp strains isolated from a polluted freshwater ecosystem in Cuba	Larrea-Murrell, JA; Rojas-Badia, MM; Garcia-Soto, I; Romeu-Alvarez, B; Bacchetti, T; Gillis, A; Boltes-Espinola, AK; Heydrich-Perez, M; Lugo-Moya, D; Mahillon, J	2017
Diversity of <i>Bacillus cereus</i> strains in extended shelf life	Mugadza, DT; Buys, EM	2017
Draft Genome Sequence of <i>Bacillus cereus</i> CITVM-11.1, a Strain Exhibiting Interesting Antifungal Activities	Caballero, J; Peralta, C; Molla, A; Del Valle, EE; Caballero, P; Berry, C; Felipe, V; Yaryura, P; Palma, L	2018
Effect of Processing Methods on Quality and Safety of Suya, a West African Grilled Meat	Adeyeye, SAO	2017
Elucidation of enterotoxigenic <i>Bacillus cereus</i> outbreaks in Austria by complementary epidemiological and microbiological investigations, 2013	Schmid, D; Rademacher, C; Kanitz, EE; Frenzel, E; Simons, E; Allerberger, F; Ehling-Schulz, M	2016
Evaluation of currently employed food preservation conditions to tackle biofilm forming food pathogens	Nadaraja, AV; Nair, AJ; Prameela, M; Hari, N; Balakrishnan, N	2017
Evaluation of the Toxicity and Toxicokinetics of Cereulide from an Emetic <i>Bacillus cereus</i> Strain of Milk Origin	Cui, YF; Liu, Y; Liu, XY; Xia, X; Ding, SY; Zhu, K	2016
Evaluation of two standard and two chromogenic selectieve media for optimal growth and enumeration of isolates of 16 unique <i>Bacillus</i> spp.	Kabir, MS; Hsieh, YH; Simpson, S; Kerdahi, K; Sulaiman, IM	2017
Formation of multi-species biofilms by <i>Enterococcus faecium</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , and <i>Bacillus cereus</i> isolated from ricotta processing and effectiveness of chemical sanitation procedures	Fernandes, MD; Alvares, ACC; Manoel, JGM; Esper, LMR; Kabuki, DY; Kuaye, AY	2017
Genotypic heterogeneity of emetic toxin producing <i>Bacillus cereus</i> isolates from China	Yang, Y; Gu, H; Yu, XF; Zhan, L; Chen, JC; Luo, Y; Zhang, YY; Zhang, YJ; Lu, YY; Jiang, JM; Mei, LL	2017
Growth and inhibition by spices of growth from spores of enterotoxigenic <i>Bacillus cereus</i> in cooked rice	Hariram, U; Labbe, RG	2016
Growth and toxigenic potential of <i>Bacillus cereus</i> during storage temperature abuse in cooked irradiated chicken rice in combination with nisin and carvacrol	Ayari, S; Dussault, D; Hamdi, M; Lacroix, M	2016
Identification and characterization of aerobic spore forming bacteria isolated from commercial camel's milk in south of Algeria	Ziane, M; Couvert, O; Le Chevalier, P; Moussa-Boudjemaa, B; Leguerinel, I	2016
Identifying multiple bacterial pathogens by loop-mediated isothermal amplification on a rotate & react slipchip	Xia, Y; Liu, ZH; Yan, SQ; Yin, F; Feng, XJ; Liu, BF	2016
Impact of temperature, nutrients, pH and cold storage on the germination, growth and resistance of <i>Bacillus cereus</i> spores in egg white	Soni, A; Oey, I; Silcock, P; Bremer, PJ	2018
Improvement of microbiological qualities of namphrik by gamma irradiation	Chahorm, K; Neramitmansook, N; Kongsang, N; Ko, J	2017
Inactivation of <i>Bacillus cereus</i> spores in a tsuyu sauce using continuous ohmic heating with five sequential elbow-type electrodes	Ryang, JH; Kim, NH; Lee, BS; Kim, CT; Lee, SH; Hwang, IG; Rhee, MS	2016
Influence of season and type of restaurants on sashimi microbiota	Migueis, S; Moura, AT; Saraiva, C; Esteves, A	2016
Intraclade Variability in Toxin Production and Cytotoxicity of <i>Bacillus cereus</i> Group Type Strains and Dairy-Associated Isolates	Miller, RA; Jian, JH; Beno, SM; Wiedmann, M; Kovac, J	2018
Investigation on <i>Bacillus cereus</i> and associated risk factors in bovine raw milk in Debre Zeit town, Ethiopia	Kassa, A; Zewude, G; Tessema, TS	2017
Isolation and Characterization of Spore-Forming Bacilli (SFB) from Shepherd's Purse (<i>Capsella bursa-pastoris</i>)	Lee, WJ; Kim, HB; Kim, KS	2016
iTRAQ-based proteomic analysis of LI-F type peptides produced by <i>Paenibacillus polymyxa</i> JSa-9 mode of action against <i>Bacillus cereus</i>	Han, JZ; Gao, P; Zhao, SM; Bie, XM; Lu, ZX; Zhang, C; Lv, FX	2017
Microbial diversity of consumption milk during processing and storage	Porcellato, D; Aspholm, M; Skeie, SB; Monshaugen, M; Brendehaug, J; Mellegard, H	2018
Microbiological contamination of imported frozen fish marketed in Eastern Province of Saudi Arabia	Elhadi, N; Aljeldah, M; Aljindan, R	2016
Microbiological quality assessment of meals and work surfaces in a school-deferred catering system	Petruzzelli, A; Osimani, A; Tavoletti, S; Clementi, F; Vetrano, V; Di Lullo, S; Paolini,	2018

	F; Foglini, M; Micci, E; Oraziotti, N; Luchetti, T; Tonucci, F	
Microbiological quality assessment of milk at different stages of the dairy value chain in a developing country setting	Islam, MA; Roy, S; Nabi, A; Solaiman, S; Rahman, M; Huq, M; Siddiquee, NA; Ahmed, N	2018
Microbiological safety of Thai pandan custard filled products and their ingredients	Puangburee, S; Jindaprasert, A; Vattanmanee, S; Wongsommart, D; Swetwathana, A	2016
Milk-originated <i>Bacillus cereus</i> sensu lato strains harbouring <i>Bacillus anthracis</i> -like plasmids are genetically and phenotypically diverse	Bartoszewicz, M; Marjanska, PS	2017
Molecular Characterization and Risk Assessment of <i>Bacillus cereus</i> Sensu Lato Isolated from Ultrahigh-Temperature and Pasteurized Milk Marketed in Rio de Janeiro, Brazil	Chaves, JQ; de Papa, EP; Rabinovitch, L; Vivoni, AM	2017
Molecular Characterization of Mosquitocidal Toxin (Surface Layer Protein, SLP) from <i>Bacillus cereus</i> VCRC B540	Mani, C; Selvakumari, J; Han, Y; Jo, Y; Thirugnanasambantham, K; Sundarapandian, S; Poopathi, S	2018
Next generation sequencing-based multigene panel for high throughput detection of food-borne pathogens	Ferrario, C; Lugli, GA; Ossiprandi, MC; Turroni, F; Milani, C; Duranti, S; Mancabelli, L; Mangifesta, M; Alessandri, G; van Sinderen, D; Ventura, M	2017
Non-haemolytic enterotoxigenic <i>Bacillus cereus</i> strains from raw and pasteurized milk and milking utensils in Kelantan, Malaysia	Aklilu, E; Atiqah, RN	2017
NOT AVAILABLE - 16S rRNA gene sequencing and culture dependent analysis of bacterial diversity associated with commercially processed salads	Abida, B; Basharat, A	2016
Occurrence and behavior of <i>Bacillus cereus</i> in naturally contaminated ricotta salata cheese during refrigerated storage	Spanu, C; Scarano, C; Spanu, V; Pala, C; Casti, D; Lamon, S; Cossu, F; Ibba, M; Nieddu, G; De Santis, EPL	2016
Occurrence and diversity of <i>Bacillus cereus</i> and moulds in spices and herbs	Fogele, B; Granta, R; Valcina, O; Berzins, A	2018
Pathogenic Characteristics and Antibiotic Resistance of Bacterial Isolates from Farmstead Cheeses	Jang, K; Lee, J; Lee, H; Kim, S; Ha, J; Choi, Y; Oh, H; Yoon, Y; Lee, S	2018
Pathogenic features of heterotrophic plate count bacteria from drinking-water boreholes	Horn, S; Pieters, R; Bezuidenhout, C	2018
Phylogenetic and toxinogenic characteristics of <i>Bacillus cereus</i> group members isolated from spices and herbs	Frentzel, H; Kraushaar, B; Krause, G; Bodi, D; Wichmann-Schauer, H; Appel, B; Mader, A	2018
Potassium-Ion Selective fluorescent sensors to detect cereulide the emetic toxin of BC in food samples and HeLa Cells	Garcia-Calvo, J; Ibeas, S; Anton-Garcia, EC; Torroba, T; Gonzalez-Aguilar, G; Antunes, W; Gonzalez-Lavado, E; Fanarraga, ML	2017
Presence of Human Pathogens in Produce from Retail Markets in Northern Germany	Fiedler, G; Kabisch, J; Bohnlein, C; Huch, M; Becker, B; Cho, GS; Franz, CMAP	2017
Presence of pathogenic bacteria in ice cubes and evaluation of their survival in different systems	Settanni, L; Gaglio, R; Stucchi, C; De Martino, S; Francesca, N; Moschetti, G	2017
Presenting a rapid method for detection of BC, <i>Listeria monocytogenes</i> and <i>Campylobacter jejuni</i> in food samples	Razei, A; Sorouri, R; Mousavi, SL; Nazarian, S; Amani, J; Aghamollaei, H	2017
Prevalence and antimicrobial resistance of <i>Bacillus cereus</i> isolated from beef products in Egypt	Shawish, R; Tarabees, R	2017
Prevalence, Enterotoxin Production and Antibiotic Resistance of <i>Bacillus cereus</i> Isolated from Milk and Cheese ([1] [2])	Yibar, A; Cetinkaya, F; Soyutemiz, E; Yaman, G	2017
Prevalence, molecular identification and characterization of <i>Bacillus cereus</i> isolated from beef burgers	Soleimani, M; Hosseini, H; Pilevar, Z; Mehdizadeh, M; Carlin, F	2017
Prevalence, virulence factor genes and antibiotic resistance of <i>Bacillus cereus</i> sensu lato isolated from dairy farms and traditional dairy products	Owusu-Kwarteng, J; Wuni, A; Akabanda, F; Tano-Debrah, K; Jespersen, L	2017
Prevalence, Virulence Genes, Antimicrobial Susceptibility, and Genetic Diversity of <i>Bacillus cereus</i> Isolated From Pasteurized Milk in China	Gao, TT; Ding, Y; Wu, QP; Wang, J; Zhang, JM; Yu, SB; Yu, PF; Liu, CC; Kong, L; Feng, Z; Chen, MT; Wu, S; Zeng, HY; Wu, HM	2018
Production of hemolysin BL by <i>Bacillus cereus</i> group isolates of dairy origin is associated with whole-genome phylogenetic clade	Kovac, J; Miller, RA; Carroll, LM; Kent, DJ; Jian, JH; Beno, SM; Wiedmann, M	2016
Propensity for biofilm formation by aerobic mesophilic and thermophilic spore forming bacteria isolated from Chinese milk powders	Sadiq, FA; Flint, S; Yuan, L; Li, Y; Liu, TJ; He, GQ	2017

Propidium monoazide quantitative real time PCR for the enumeration of some viable but nonculturable foodborne bacteria in meat and meat product	Norhan Khairy Abd El-Aziz	2018
Quantitative Prevalence, Phenotypic and Genotypic Characteristics of <i>Bacillus cereus</i> Isolated from Retail Infant Foods in China	Zhang, YY; Chen, JC; Feng, CY; Zhan, L; Zhang, JY; Li, Y; Yang, Y; Chen, HH; Zhang, Z; Zhang, YJ; Mei, LL; Li, HF	2017
Raw ready-to-eat seafood safety: microbiological quality of the various seafood species available in fishery, hyper and online markets	Kim, HW; Hong, YJ; Jo, JI; Ha, SD; Kim, SH; Lee, HJ; Rhee, MS	2017
Recapitulating the competence of novel & rapid monitoring tools for microbial documentation in food systems	Rahman, UU; Shahzad, T; Sahar, A; Ishaq, A; Khan, MI; Zahoor, T; Aslam, S	2016
Retrospective study on the hygienic quality of fresh ricotta cheeses produced in Sicily, Italy	Scatassa, ML; Mancuso, I; Sciortino, S; Macaluso, G; Palmeri, M; Arcuri, L; Todaro, M; Cardamone, C	2018
Safety evaluation of <i>Bacillus cereus</i> isolated from smelly mandarin fish	Yang, PZ; Zhu, XX; Cao, LL; Cheng, JS; Zheng, Z; Jiang, ST	2017
Signal enhancement in ATP bioluminescence to detect bacterial pathogens via heat treatment	Lee, J; Park, C; Kim, Y; Park, S	2017
Silage review: Animal and human health risks from silage	Driehuis, F; Wilkinson, JM; Jiang, Y; Ogunade, I; Adesogan, AT	2018
Silage review: Foodborne pathogens in silage and their mitigation by silage additives	Queiroz, OCM; Ogunade, IM; Weinberg, Z; Adesogan, AT	2018
Thermal inactivation kinetics of <i>Bacillus cereus</i> in Chinese rice wine and in simulated media based on wine components	Lv, RL; Chantapakul, T; Zou, MM; Li, M; Zhou, JW; Ding, T; Ye, XQ; Liu, DH	2018
Transcriptome analysis of <i>Bacillus thuringiensis</i> spore life, germination and cell outgrowth in a vegetable-based food model	Bassi, D; Colla, F; Gazzola, S; Puglisi, E; Delledonne, M; Cocconcelli, PS	2016
Virulence profiles of pathogenic bacterial strains isolated from different sources	Muresan, A; Sarbu, I; Pelinescu, D; Ionescu, R; Csutak, O; Stoica, I; Rusu, E; Vassu-Dimov, T	2016